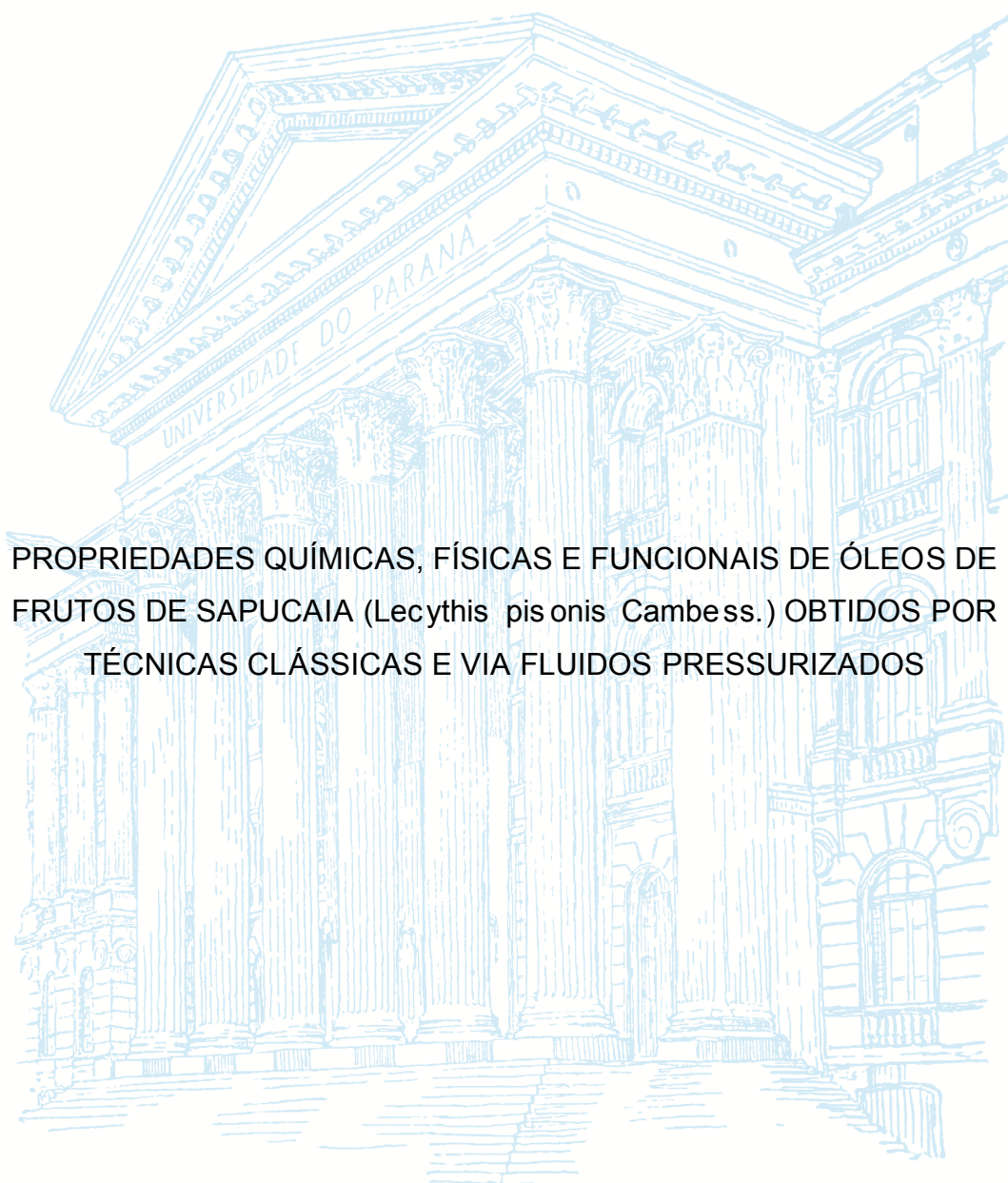


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GERSON LOPES TEIXEIRA



PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E FUNCIONAIS DE ÓLEOS DE
FRUTOS DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess.) OBTIDOS POR
TÉCNICAS CLÁSSICAS E VIA FLUIDOS PRESSURIZADOS

CURITIBA

2018

GERSON LOPES TEIXEIRA

PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E FUNCIONAIS DE ÓLEOS DE
FRUTOS DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess.) OBTIDOS POR
TÉCNICAS CLÁSSICAS E VIA FLUIDOS PRESSURIZADOS

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção
do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos, no
Curso de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos, Setor de Tecnologia, da Universidade
Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Hoffmann Ribani

Supervisor internacional: Prof. Dr. Alejandro Gregório
Marangoni

CURITIBA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

T266p

Teixeira, Gerson Lopes

Propriedades químicas, físicas e funcionais de óleos de frutos de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) obtidos por técnicas clássicas e via fluidos pressurizados / Gerson Lopes Teixeira. – Curitiba, 2018.
159 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2018.

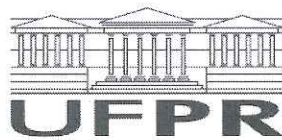
Orientadora: Rosemary Hoffmann Ribani.

Coorientador: Alejandro Gregório Marangoni.

1. Óleos vegetais. 2. Reologia. 3. Propano. 4. Composição química. 5. Triacilglicerol.
I. Universidade Federal do Paraná. II. Ribani, Rosemary Hoffmann. III. Marangoni, Alejandro Gregório.
IV. Título.

CDD: 541.341

Bibliotecária: Romilda Santos - CRB-9/1214



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **GERSON LOPES TEIXEIRA** intitulada: **PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E FUNCIONAIS DE ÓLEOS DE FRUTOS DE SAPUCAIA (LECYTHIS PISONIS Cambess) OBTIDOS POR TÉCNICAS CLÁSSICAS E VIA FLUIDOS PRESSURIZADOS.**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 01 de Março de 2018.

ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
Presidente da Banca Examinadora

ALEXANDRE FERREIRA SANTOS
Avaliador Externo

HELAYNE APARECIDA MAIEVES
Avaliador Externo

FABIANE HAMERSKI
Avaliador Externo

AGNES DE PAULA SCHEER
Avaliador Interno

Aos meus pais Antônio e Francisca que apoiaram meus estudos durante toda a minha vida, e cujo objeto desta pesquisa foi gentilmente coletado por eles.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me guia e me permitiu chegar a esta etapa tão almejada da vida, à Ele toda honra e glória.

Aos meus pais Antônio e Francisca que me educaram como puderam, e souberam me apoiar em todas as minhas escolhas, me dando todo o suporte que precisei para continuar batalhando na vida.

Agradeço pelo apoio incondicional que recebi do PPGEAL-UFPR desde a minha entrada no programa em 2012.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À minha orientadora Prof. Dra. Rosemary Hoffmann Ribani pela confiança durante seis anos, desde o mestrado até esta etapa final do doutorado, por ter confiado no meu trabalho e me apoiado na mudança de tema mesmo faltando pouco tempo para conclusão do curso, e por oferecer suporte nas etapas subsequentes.

To my supervisor in Canada, Professor Dr. Alejandro Marangoni for all the support before and during my sandwich doctorate period at the University of Guelph.

Aos meus amigos do Laboratório Bioativos: Suelen, Polyanna, Rafaela e Helayne pelo suporte e palavras de apoio sempre, aqui minha eterna gratidão.

À minha amiga de graduação Tâmara Amorim, que, apesar de seguirmos carreiras distintas, esteve sempre me apoiando na minha jornada profissional.

À prof. Dra. Joana Lea Meira Silveira, por disponibilizar a estrutura do seu laboratório para a realização de parte desse trabalho.

Ao laboratório LACTA/UFPR na pessoa do professor Dr. Marcos Corazza pela disponibilização de infraestrutura e apoio na discussão do artigo.

Ao Damián Estudardo Lopez, Ariádine Reder, e Amanda Guedes pelo auxílio nos equipamentos de extração com fluidos pressurizados no LACTA.

À minha amiga de mestrado/doutorado Caroline Goltz que me incentivou a escrever o projeto de doutorado sanduíche, o qual foi contemplado pela CAPES para viagem ao Canadá, minha gratidão pelo apoio de sempre.

Ao Marcos Vinícios da Silva Teixeira por ter gentilmente coletado parte da sapucaia utilizada neste estudo, e ao Gildson Silva Teixeira (meu sobrinho) pelo auxílio na captura de fotos das árvores de sapucaia.

Aos amigos e familiares que, mesmo de longe, estiveram torcendo por mim.

“O sábio procura aprender sempre mais. O tolo já está satisfeito com sua própria ignorância.”

– Provérbio de Salomão

RESUMO

O consumo de castanhas tem sido cada vez mais estimulado, pois elas fornecem macro e micronutrientes, além de compostos bioativos com características antioxidantes, benéficos à saúde humana, efetivos na prevenção a enfermidades como doenças cardiovasculares, hipertensão, processos inflamatórios e doenças crônicas. Entre as castanhas brasileiras pouco exploradas, têm-se castanha de *Lecythis pisonis* (Cambess.) conhecida como sapucaia, rica em ácidos graxos, aminoácidos, e minerais, bem como fibras, sendo considerada um alimento funcional e nutritivo (**Capítulo 1**). O objetivo deste trabalho foi extrair óleo de sapucaia por meio de processos de extração clássicos e via fluidos pressurizados e avaliar suas características químicas, térmicas, antioxidantes, e as propriedades funcionais da sua farinha parcialmente desengordurada. No **Capítulo 2**, foram extraídos dois óleos a partir dos métodos de Bligh & Dyer (a frio) e Soxhlet (a quente) com hexano, que foram avaliados quanto a composição em ácidos graxos, comportamento reológico, propriedades térmicas, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, estabilidade oxidativa, e os grupos funcionais por meio de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Os métodos de extração utilizados impactam a composição química, comportamento reológico e estabilidade térmica dos óleos, enquanto os perfis de cristalização e fusão, e os grupos funcionais observados por FT-IR são pouco afetados. O **Capítulo 3** apresenta a extração dos óleos de sapucaia por meio de “tecnologia verde” usando propano comprimido e CO₂ supercrítico e o impacto desses processos nas características químicas, térmicas e de estabilidade dos óleos. A utilização do propano subcrítico proporcionou os melhores resultados, chegando a apresentar eficiência de extração de 93% quando comparado ao método clássico usando solvente orgânico, além de pouco impactar no comportamento de fusão e cristalização, no perfil de ácidos graxos e no conteúdo de triacilgliceróis. O **Capítulo 4** traz as características do resíduo gerado a partir das extrações sub- e supercrítica, e avaliação das propriedades físico-químicas e funcionais. As tecnologias utilizadas no desengorduramento promoveram a remoção parcial da gordura, deixando um residual lipídico entre 18-46%, que posteriormente impactou diretamente nas propriedades funcionais e estabilidade térmica da farinha desengordurada de sapucaia (FDS) obtida, mas pouco impacto foi observado na morfologia dos grânulos. A FDS apresentou propriedades de emulsificação e de espuma, além de elevada absorção de óleo e água. As emulsões produzidas com FDS e óleo de soja exibiram gotas de tamanho micrométrico que, por sua vez, impactaram diretamente sua estabilidade. Deste modo, este estudo mostrou que diferentes processos de extração causam impacto significativo em algumas propriedades dos óleos, enquanto outras características permanecem inalteradas independente da tecnologia utilizada. Além disso, foi comprovado que o resíduo gerado a partir das extrações possui propriedades nutricionais e funcionais de interesse industrial, podendo também ser aproveitado após a remoção do conteúdo lipídico da sapucaia, comprovando seu *status* de alimento funcional, com total aproveitamento, e grande potencial no mercado alimentício.

Palavras-chave: óleos vegetais, reologia, propano comprimido, composição química, triacilgliceróis, farinha de castanha.

ABSTRACT

The consumption of nuts has been increasingly stimulated, as they provide macro and micronutrients, as well as bioactive compounds with antioxidant properties, beneficial to human health, effective in preventing illness such as cardiovascular diseases, hypertension, inflammatory processes, and chronic diseases. Among the Brazilian nuts little exploited, there are the nuts (or chestnut) of *Lecythis pisonis* (Cambess.), known as sapucaia, which is a rich source of fatty acids, amino acids, and minerals, as well as fibers, thus considered a functional and nutritious food (**Chapter 1**). The aim of this work was to extract sapucaia oil by classic extraction processes and by using pressurized fluids and to evaluate its chemical, thermal, and antioxidant characteristics, and the functional properties of its partially defatted flour. In **Chapter 2**, two oils were extracted from the methods of Bligh & Dyer (cold) and Soxhlet (hot) with hexane, which were evaluated for their composition in fatty acids, rheological behavior, thermal properties, total phenolic compounds, antioxidant activity, oxidative stability, and functional groups via Fourier transform infrared (FT-IR). The extraction methods used affect the chemical composition, rheological behavior and thermal stability of the oils, while the crystallization and melting profiles, and the functional groups observed by FT-IR are little affected. **Chapter 3** presents the extraction of sapucaia oils by "green technology" using compressed propane and supercritical CO₂ and the impact of these processes on the chemical, thermal and stability characteristics of the oils. The use of subcritical propane provided the best results, reaching 93% extraction efficiency when compared to the classic method using organic solvent, besides negligible impact on the melting and crystallization behavior, the fatty acid profile and the triacylglycerol content. **Chapter 4** presents the characteristics of the residue generated from the sub- and supercritical extractions, and the evaluation of its physicochemical and functional properties. The technologies used in the degreasing promoted the partial removal of fat, remaining a lipid residual between 18-46%, which subsequently had a direct impact on the functional properties and thermal stability of the sapucaia defatted flour (SDF) obtained, but a minor impact was observed in the morphology of the granules. SDF showed emulsification and foam properties, as well as high absorption of oil and water. Emulsions produced with SDF and soybean oil showed droplets of micrometric size which, in turn, directly affected their stability. Thus, this study showed that different extraction processes have a significant impact on some properties of the oils, while other characteristics remain unchanged regardless of the technology used. In addition, it was verified that the residue generated from the extractions has nutritional and functional properties of industrial interest, and can also be used after removal of the lipid content of the sapucaia, proving its functional food status, with full use, and enormous potential in the food market.

Keywords: vegetable oils, rheology, compressed propane, chemical composition, triacylglycerols, nut flour.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 Árvore jovem de *Lecythis pisonis* Cambess. (a); uma “minifloresta” de *L. pisonis* (b); e o detalhe de dois pixídios abertos que permanecem na árvore (c)..24

Figura 1.2 Ilustração do fruto da sapucaia exibindo detalhes do pixídio, opérculo, sementes e a castanha.. 26

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 Castanhas e óleos de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.)..... 44

Figura 2.2 Curvas TG/DTG dos óleos de sapucaia obtidos usando os métodos de Bligh & Dyer (a, b) e Soxhlet (c, d), e uma comparação entre a perda de massa em função da temperatura (e, f) quando analisados sob ar sintético, e sob nitrogênio. 57

Figura 2.3 Termogramas de DSC dos óleos de sapucaia. Perfil de fusão sob cristalização isotérmica (a, b). Impacto da taxa de varredura de 2, 5 e 10 °C/min no comportamento de cristalização (c, d)..... 60

Figura 2.4 Termogramas de DSC dos óleos de sapucaia. (a) Termograma de cristalização durante resfriamento de 80 °C a -80 °C. (b) Termograma de fusão durante aquecimento de -80 °C a 80 °C..... 61

Figura 2.5 Conteúdo de gordura sólida dos óleos de sapucaia determinados por DSC na faixa de -40 a 20 °C. 64

Figura 2.6 Curvas de fluxo para os óleos de sapucaia ajustados pelos modelos de Ostwald-de Waele (linha sólida) e Herschel-Bulkley (pontilhado) (a); curvas de viscosidade para LP1 (b, símbolos vazios) e LP2 (c, símbolos cheios), registrados a 10, 20, 30, 40 e 50 °C; evolução dos parâmetros de Herschel-Bulkley de acordo com a temperatura para índice de comportamento de fluxo (d), coeficiente de consistência (e) e tensão inicial (f). 65

Figura 2.7 Dependência das viscosidades na temperatura e o ajuste dos dados experimentais ao modelo usando a equação não-linear (a) e linearizada de Arrhenius (b) para os óleos de sapucaia em diferentes temperaturas. 68

Figura 2.8 Rampa de temperatura durante aquecimento (10-60 °C) e resfriamento (60-10 °C) (a), e varredura de frequência (b,c) do óleo de sapucaia. 69

Figura 2.9 Espectro ATR-FTIR dos óleos de sapucaia na região do IR médio de 3200-650 cm⁻¹. 70

CAPÍTULO 3

Figura 3.1 Amostras de castanhas de sapucaia e os óleos resultantes da extração. Sapucaia inteira (a); detalhe de uma sapucaia quebrada (b); sapucaias descascadas (c); sapucaias trituradas separadas pela peneira de mesh #8 (d) e #12 (e); resíduo da castanha após extração do óleo (f); aparência do óleo (g); amostras de óleo armazenadas em frascos âmbar de vidro (h). 78

Figura 3.2 Diagrama esquemático do extrator utilizado neste trabalho. C1: cilindro de solvente; B1 e B2: banho ultra termostático; P1: bomba do tipo seringa; E1: extrator; S: vaso de separação; V1: válvula de esfera; V2 e V3: válvula de agulha; V4: válvula de agulha micrométrica; linhas pontilhadas: fluidos de troca de calor. 79

Figura 3.3 Influência da temperatura (a, b) e pressão (c, d) na extração de óleos de castanhas de sapucaia usando propano subcrítico (LPP1 a LPP5); uma comparação de toda a cinética da extração com propano subcrítico com a amostra obtida por CO₂ supercrítico com etanol 1:1 (m/m) como co-solvente (LPC) (e); e comparação da eficiência da extração com Soxhlet usando n-hexano (f). 86

Figura 3.4 Superfície de resposta (a) e gráfico de Pareto (b) comparando os efeitos da temperatura e pressão sobre o rendimento da extração de óleo de sapucaia obtido pelo uso de propano comprimido. 87

Figura 3.5 Curvas de DSC mostrando o comportamento de (a) cristalização (40 a -80 °C) e (b) fusão (-80 a 40 °C) de óleos de sapucaia obtidos por meio de diferentes processos de extração..... 96

Figura 3.6 Cromatogramas de HPLC característicos para composição de TAG dos óleos de sapucaia obtidos por meio de propano subcrítico (a), CO₂ supercrítico com etanol 1:1 (m/m) como co-solvente (b) e n-hexano (c). 100

CAPÍTULO 4

Figura 4.1 Amostras das castanhas de sapucaia trituradas nas formas *in natura* (NS), e desengorduradas com propano comprimido (L1 a L5), dióxido de carbono+etanol (LC), ou com éter de petróleo (LS). 119

Figura 4.2 Superfícies de resposta representando o efeito das variáveis pressão (P) e temperatura (T) na composição centesimal da farinha de sapucaia desengordurada com propano comprimido..... 121

Figura 4.3 Micrografias eletrônicas dos grânulos da castanha de sapucaia *in natura* (NS), e desengordurada com propano comprimido (L1 a L5), dióxido de carbono+etanol (LC), ou com éter de petróleo (LS). A barra representa 10 µm. 125

Figura 4.4 Difrátograma exibindo o perfil de raios-X da castanha de sapucaia *in natura* (NS), e desengordurada por meio de diferentes processos de extração. 127

Figura 4.5 Espectro DRIFTS da castanha de sapucaia e das farinhas desengorduradas na região de 4000–500 cm⁻¹. 128

Figura 4.6 Termogramas exibindo o perfil de perda de massa versus derivada termogravimétrica da castanha de sapucaia in natura, e desengordurada.	130
Figura 4.7 Comparação entre a perda de massa (a) e da derivada termogravimétrica (b) da castanha de sapucaia in natura e desengordurada.	131
Figura 4.8 Espectro UV-Vis de soluções a 1 mg/mL de farinhas de sapucaia desengorduradas, na faixa de comprimento de onda entre 220 e 400 nm.	134
Figura 4.9 (a) Turbidez de soluções a 1% (m/v) de farinha de sapucaia desengordurada medida a 500 nm em espectrofotômetro, e (b) capacidade de retenção de óleo (CRO) ou água (CRA).	135
Figura 4.10 (a) Capacidade (CE) e estabilidade da espuma (EE), e (b) índices de atividade emulsionante (IAE) e de estabilidade da emulsão (IEE) das farinhas de sapucaia desengorduradas.	137
Figura 4.11 Teste de separação de fases de emulsões preparadas com óleo de soja e solução a 1% (m/v) das farinhas de sapucaia desengorduradas (1:3, v/v), homogeneizadas a 15.000 rpm por 5 min.	139
Figura 4.12 (a) Micrografias de emulsões preparadas com óleo de soja e solução a 1% (m/v) das farinhas de sapucaia desengorduradas (1:3, v/v). Ampliação de 80 ×; a barra representa 200 µm. (b) Distribuição de tamanho de gotas (DTG) das emulsões.	140

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1 Composição físico-química de castanhas de sapucaia	28
Tabela 1.2 Conteúdo mineral das castanhas de sapucaia	29
Tabela 1.3 Perfil de aminoácidos de castanhas de sapucaia	31
Tabela 1.4 Composição físico-química dos óleos de sapucaia obtidos por prensagem a frio	32
Tabela 1.5 Comparação do perfil de ácidos graxos da fração lipídica presente nos óleos de sapucaia	33

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 Composição centesimal da sapucaia de acordo com diferentes autores	42
Tabela 2.2 Compostos fenólicos totais (CFT), e atividade antioxidante dos óleos de sapucaia medidas por diferentes métodos	51
Tabela 2.3 Perfil de ácidos graxos dos óleos de sapucaia em comparação com outros estudos	53
Tabela 2.4 Comparação entre a composição de ácidos graxos saturados e do óleo de sapucaia e outros óleos vegetais brasileiros	55
Tabela 2.5 Dados de TG/DTG para cada estágio de degradação térmica dos óleos de sapucaia	58
Tabela 2.6 Parâmetros de DSC obtidos da transição de fase cristalização e fusão dos óleos de sapucaia	62
Tabela 2.7 Parâmetros reológicos ajustados pelos modelos de Ostwald-de Waele e Herschel-Bulkley para os óleos de sapucaia avaliados em diferentes temperaturas.	66
Tabela 2.8 Comparação entre a energia de ativação (E_a) e a viscosidade aparente (η) na taxa de cisalhamento de $53,4 \text{ s}^{-1}$ dos óleos de sapucaia analisados em diferentes temperaturas	68
Tabela 2.9 Bandas de absorção no espectro ATR-FTIR dos óleos de sapucaia .	71

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1 Condições experimentais e resultados da extração do óleo de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.) com propano comprimido, CO ₂ supercrítico + etanol como co-solvente, ou hexano.....	85
Tabela 3.2 Parâmetros para o propano em diferentes condições usadas na extração dos óleos de sapucaia.....	88
Tabela 3.3 Análise de variância (ANOVA) para o modelo de rendimento global da extração do óleo de sapucaia obtido com uso de propano subcrítico	89
Tabela 3.4 Índice de iodo e parâmetros de estabilidade dos óleos de sapucaia .	92
Tabela 3.5 Perfil de ácidos graxos dos óleos de sapucaia obtidos por meio de diferentes processos de extração.....	94
Tabela 3.6 Parâmetros de DSC para a o comportamento de cristalização (40 a -80 °C) dos óleos de sapucaia	97
Tabela 3.7 Parâmetros de DSC para a o comportamento de fusão (-80 a 40 °C) dos óleos de sapucaia.....	98
Tabela 3.8 Composição em triacilgliceróis (TAG) dos óleos de sapucaia obtidos por meio de diferentes processos de extração	102

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1 Condições experimentais e resultados da extração de sapucaia com propano comprimido, CO ₂ supercrítico + etanol como co-solvente, ou éter de petróleo	117
Tabela 4.2 Composição centesimal e parâmetros de cor da sapucaia (NS) e suas farinhas desengorduradas.....	118
Tabela 4.3 Efeito das variáveis temperatura e pressão sobre as respostas estudadas no desengorduramento de farinhas de sapucaia usando propano comprimido.....	122
Tabela 4.4 Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear relativo à composição centesimal da farinha de sapucaia desengordurada usando propano comprimido.....	123
Tabela 4.5 Resultados de DRX e MEV para a sapucaia in natura (NS), e suas farinhas desengorduradas.....	126
Tabela 4.6 Resultados das análises termogravimétrica (TG) e derivada termogravimétrica (DTG) da sapucaia in natura (NS), e suas farinhas desengorduradas analisadas sob atmosfera de ar sintético	132
Tabela 4.7 Separação de fases (mL) de emulsões preparadas com óleo de soja e solução a 1% (m/v) das farinhas desengorduradas de sapucaia (1:3, v/v), homogeneizadas a 15.000 rpm por 5 minutos.	138

LISTA DE SIGLAS

ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
AG	Ácido graxo
AGI	Ácido graxo insaturado
AGMI	Ácido graxo monoinsaturado
AGPI	Ácido graxo poli-insaturado
AGS	Ácido graxo saturado
ANOVA	Análise de variância
ATR-FTIR	Espectroscopia de Infravermelho de Refletância Total Atenuada com Transformada de Fourier
C*	<i>Chroma</i>
CFT	Compostos fenólicos totais
CE	Capacidade espumante
CRA	Capacidade de retenção de água
CRO	Capacidade de retenção de óleo
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
DRIFTS	Espectroscopia por refletância difusa com transformada de Fourier
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura/Exploratória Diferencial
DTG	Derivada termogravimétrica
E_a	Energia de ativação
EE	Estabilidade da espuma
EAG	Equivalentes de ácido gálico
FDS	Farinha desengordurada de sapucaia
FRAP	Potencial antioxidante de redução do ferro
h^*	Ângulo <i>hue</i>
HB	Herschel-Bulkley
IP	Período de Indução – <i>induction period</i>
IAE	Índice de atividade emulsionante
IEE	Índice de estabilidade da emulsão
LPS	Óleo extraído por Soxhlet com hexano
LPP1-LPP5	Óleos extraídos por propano comprimido
LPC	Óleo extraído por CO ₂
LS	Farinha desengordurada por Soxhlet com éter de petróleo
L1-L5	Farinhas desengorduradas por propano comprimido
LC	Farinha desengordurada por CO ₂
ODS	Óleo de sapucaia
OSI	Índice de estabilidade oxidativa – <i>oxidative stability index</i>
OW	Ostwald-de Waele
Psub	Propano subcrítico
scCO ₂	Dióxido de carbono supercrítico
SFC	Teor de gordura sólida – <i>solid fat content</i>
TAG	Triacilglicerol
TGA	Análise termogravimétrica
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina
Trolox	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	18
OBJETIVOS	20
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA: Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.), uma castanha comestível com potencial industrial	21
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	22
1.1. Frutos secos comestíveis.....	22
1.2. <i>Lecythis pisonis</i> Cambess.....	23
1.3. Características da sapucaia de interesse industrial	27
1.3.1. Propriedades físico-químicas da sapucaia	27
1.3.2. Conteúdo mineral da sapucaia	28
1.3.3. Perfil de aminoácidos da sapucaia	30
1.3.4. Propriedades físico-químicas do óleo de sapucaia.....	31
1.3.5. Perfil de ácidos graxos do óleo de sapucaia.....	33
1.4. Tecnologias de extração de óleos	34
1.4.1. Método Clássico 1: Soxhlet	34
1.4.2. Método clássico 2: Bligh & Dyer	35
1.4.3. Tecnologia “verde”: fluidos pressurizados	35
1.5. Técnicas de caracterização de óleos	36
1.6. Técnicas de caracterização de farinha desengordurada	38
1.7. Considerações sobre a sapucaia.....	38
CAPÍTULO 2: Propriedades químicas, térmicas e reológicas e estabilidade de óleos extraídos dos frutos de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.): uma fonte potencial para a indústria de óleos vegetais	40
2.1. INTRODUÇÃO	42
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	43
2.2.1. Reagentes	43
2.2.2. Amostras.....	44
2.2.3. Extração dos óleos	44
2.2.4. Métodos analíticos	45
2.2.4.1. Teor de água e determinação do pH	45
2.2.4.2. Composição de ácidos graxos.....	45
2.2.4.3. Caracterização reológica	46
2.2.4.4. Índice de Estabilidade Oxidativa.....	47
2.2.4.5. Espectroscopia no Infravermelho	47
2.2.4.6. Análises térmicas por termogravimetria - decomposição térmica.....	48
2.2.4.7. Análises térmicas por calorimetria diferencial de varredura	48

2.2.4.8. Compostos fenólicos totais.....	49
2.2.4.9. Atividade antioxidante dos extratos de óleo	49
2.2.5. Análise de dados	50
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
2.3.1. Conteúdo de água e pH aparente.....	50
2.3.2. Compostos fenólicos e propriedades antioxidantes.....	51
2.3.3. Perfil de ácidos graxos.....	53
2.3.4. Índice de estabilidade oxidativa	56
2.3.5. Degradação térmica	57
2.3.6. Comportamento térmico de cristalização e fusão	59
2.3.6.1. Temperatura de cristalização e o impacto da taxa de varredura	59
2.3.6.2. Curva de resfriamento	60
2.3.6.3. Curva de aquecimento.....	63
2.3.6.4. Conteúdo de gordura sólida	64
2.3.7. Propriedades reológicas	65
2.3.7.1. Reologia em estado estacionário	65
2.3.7.2. Reologia oscilatória	69
2.3.8. Análise de ATR-FTIR.....	70
2.4. CONCLUSÃO.....	72
CAPÍTULO 3: Avaliação da extração do óleo de sapucaia utilizando propano subcrítico e CO₂ supercrítico	74
3.1 INTRODUÇÃO	76
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	78
3.2.1 Amostras de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.).....	78
3.2.2 Extração do óleo da sapucaia.....	78
3.2.2.1 Extração clássica.....	79
3.2.2.2 Processos de extração com fluidos sub- e supercrítico.....	79
3.2.3 Composição em ácidos graxos.....	80
3.2.4 Composição em triacilgliceróis	81
3.2.5 Comportamento térmico	81
3.2.6 Índice de estabilidade oxidativa	82
3.2.7 Análise estatística.....	82
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
3.3.1 Rendimento	83
3.3.2 Análise estatística	86
3.3.3 Índice de iodo	91
3.3.4 Estabilidade Oxidativa	92
3.3.5 Composição em ácidos graxos.....	93

3.3.6	Comportamento térmico do óleo de sapucaia	95
3.3.7	Composição em triacilgliceróis do óleo de sapucaia	99
3.4	CONCLUSÕES	103
CAPÍTULO 4: Propriedades físico-químicas, térmicas e funcionais da farinha de sapucaia parcialmente desengordurada usando fluidos pressurizados		104
4.1	INTRODUÇÃO	106
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	108
4.2.1	Obtenção das amostras de sapucaia	108
4.2.2	Processos de desengorduramento da sapucaia	108
4.2.2.1	Extrações utilizando fluidos sub- e supercríticos	109
4.2.2.2	Extração clássica	109
4.2.3	Preparo e caracterização das farinhas desengorduradas	109
4.2.3.1	Composição centesimal e análise de cor	109
4.2.3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	110
4.2.3.3	Análise termogravimétrica	110
4.2.3.4	Difratometria de raios-X (DRX)	111
4.2.3.5	Espectroscopia no Infravermelho	111
4.2.4	Propriedades funcionais das farinhas de sapucaia	111
4.2.4.1	Espectro Ultravioleta	111
4.2.4.2	Turbidez das dispersões	112
4.2.4.3	Capacidade de retenção de óleo ou água	112
4.2.4.4	Propriedades de espuma	112
4.2.4.5	Preparo e avaliação das emulsões	113
4.2.4.6	Índices de atividade emulsionante e de estabilidade da emulsão	113
4.2.4.7	Teste de estabilidade por separação de fases	114
4.2.4.8	Microestrutura e distribuição de tamanho de gotas das emulsões	114
4.2.5	Análise estatística dos dados	114
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	115
4.3.1	Rendimento	115
4.3.2	Composição centesimal e análise de cor	116
4.3.3	Efeito da extração subcrítica com propano comprimido nas características físico-químicas da FDS	120
4.3.4	Morfologia da castanha e das farinhas de sapucaia	124
4.3.5	Espectro DRIFTS	127
4.3.6	Estabilidade térmica	129
4.3.7	Propriedades funcionais da FDS	133
4.3.7.1	Espectro ultravioleta	133
4.3.7.2	Turbidez das soluções	134

4.3.7.3 Capacidade de retenção de água ou óleo	135
4.3.7.4 Propriedades de espuma da FDS	136
4.3.7.5 Propriedades emulsificantes da FDS.....	137
4.3.7.6 Separação de fases, microestrutura e distribuição de tamanho de gotas das emulsões de FDS.....	138
4.4 CONCLUSÕES	141
CONSIDERAÇÕES FINAIS	142
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	143
REFERÊNCIAS.....	144
ANEXO I.....	158
ANEXO II.....	159

INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como um grande produtor de frutos secos como as castanhas, amêndoas e nozes, oferecendo uma ampla variedade destas matrizes, assim como uma grande disponibilidade de produtos derivados. Estes vão desde o produto na casca (*in natura*), até aqueles processados como lâminas desidratadas, óleos, farinhas, barras de cereais, doces, bolos, condimentos, produtos de confeitaria, leite, essências, iogurtes, biscoitos, entre outros. As nozes verdadeiras do Brasil são famosas por apresentarem palatabilidade agradável com sabores mais suaves como o da castanha de caju, e sabores marcantes como a castanha-do-Brasil. Diversas outras indisponíveis comercialmente fazem parte do consumo e culinária regional. Isto despertou o interesse da academia por pesquisas com frutos secos não comerciais para extração, entre outras coisas, de óleos comestíveis.

O consumo de frutos secos como as castanhas tem sido cada vez mais estimulado em razão da sua composição rica em macro e micronutrientes, e da presença de compostos bioativos com características antioxidantes, comprovadamente benéficas à saúde humana, associados à prevenção de enfermidades como doenças cardiovasculares, hipertensão, processos inflamatórios e doenças crônicas. Entre os frutos secos do Brasil menos explorados, têm-se a castanha de *Lecythis pisonis* (Cambess.), listada como uma “planta alimentícia não convencional” (PANC) conhecida vulgarmente como sapucaia, rica em aminoácidos, ácidos graxos e minerais, bem como fibras, sendo considerada um alimento funcional e nutritivo.

Apesar de apresentar características interessantes para a nutrição humana e para a produção industrial, esta castanha é pouco difundida, possuindo pouco ou nenhum destaque no mercado nacional. Como resultado, informações estatísticas relacionadas à sua produção são escassas na literatura. Por estes motivos, fazem-se necessários estudos de pesquisa e desenvolvimento utilizando esta matriz, a fim de produzir e divulgar maiores informações acerca de seus benefícios e suas propriedades funcionais, de modo a difundir e despertar interesse na sua comercialização, trazendo como resultado a valorização da sua cadeia produtiva, projetando-a como um produto de potencial no mercado nacional e, até mesmo,

internacional, levando-se em consideração a importância do Brasil no mercado de exportação de frutos secos.

Um dos produtos de potencial industrial obtido a partir do fruto da sapucaia é o seu óleo, que pode ser extraído a partir de diversas técnicas como as convencionais, utilizando solventes orgânicos a frio (*e.g.* Bligh & Dyer), a quente (*e.g.* Soxhlet), ou técnicas modernas não-convencionais como as tecnologias de fluidos pressurizados (*e.g.* propano subcrítico e CO₂ supercrítico). Essas últimas possuem diversas vantagens frente as técnicas clássicas que vão desde o uso de baixas temperaturas que evitam ou diminuem a degradação de certos compostos, a eliminação da etapa de filtração, remoção completa do solvente apenas diminuindo a pressão do sistema, melhores taxas de transferência de massa e melhor poder de solvatação, elevado rendimento em curtos períodos de extração, entre outros. Além do óleo, a extração também gera uma farinha desengordurada que, por sua vez, também possui potencial de exploração industrial, não sendo considerada um resíduo, uma vez que o fruto é 100% comestível.

Portanto, diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos: i) avaliar a composição química, as propriedades térmicas e reológicas de óleos de frutos de sapucaia, bem como seu conteúdo de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, e estabilidade oxidativa, ii) estudar a cinética de extração dos óleos de sapucaia utilizando tecnologia de fluidos comprimidos (sub- e supercrítico) e avaliar os óleos obtidos quanto sua composição em ácidos graxos e triacilgliceróis, estabilidade oxidativa e comportamento de fusão e cristalização, e iii) caracterizar a farinha parcialmente desengordurada da sapucaia quanto ao seu perfil físico-químico, estabilidade térmica, e suas propriedades funcionais.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar as características químicas, térmicas, e antioxidantes de óleos obtidos de castanhas de sapucaia, e as características funcionais da sua farinha parcialmente desengordurada.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a composição química, as propriedades térmicas e reológicas de óleos de castanhas de sapucaia, bem como seu conteúdo de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, e estabilidade oxidativa (Artigo 1).

Estudar a cinética de extração dos óleos de sapucaia utilizando tecnologia de fluidos comprimidos (sub- e supercrítico) e avaliar os óleos obtidos quanto sua composição em ácidos graxos e triacilgliceróis, estabilidade oxidativa e comportamento de fusão e cristalização (Artigo 2)

Caracterizar a farinha parcialmente desengordurada da sapucaia quanto ao seu perfil físico-químico, estabilidade térmica, e suas propriedades funcionais (Artigo 3).

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.), uma castanha comestível com potencial industrial

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Frutos secos comestíveis

A importância do consumo de produtos naturais, sem grande processamento industrial ou com aditivos químicos tem tido cada vez mais destaque nos cenários nacional e internacional. Isto se deve ao aumento crescente de doenças crônicas como hipertensão e doenças cardiovasculares, decorrentes de má alimentação ou do consumo desenfreado de alimentos ultraprocessados, conhecidamente não saudáveis, associados à hábitos de vida sedentários.

Grande atenção tem sido dispensada à ingestão de produtos de origem vegetal, em especial frutos secos que comprovadamente trazem benefícios à saúde dos consumidores, reduzem o risco de desenvolvimento das doenças supracitadas, ou mesmo auxiliam no tratamento clínico daqueles que apresentam tais enfermidades. Dentre os frutos secos que são ricos em nutrientes, cujo consumo é considerado benéfico à saúde, destacam-se as nozes verdadeiras, amêndoas, e castanhas, fontes abundantes de macronutrientes como lipídios e proteínas, constituindo-se ainda como fontes de compostos bioativos, com características antioxidantes e anti-inflamatórias (CARVALHO *et al.*, 2012b).

Utilizadas comumente na alimentação humana em sua forma *in natura*, como aperitivo (COSTA; JORGE, 2011) ou ainda para a produção de alimentos que vão desde os óleos, temperos, condimentos, saladas e até bebidas e sobremesas, os frutos secos e castanhas compõem importante fonte alimentícia desde a pré-história, despontando-se como uma das mais concentradas nutricionalmente, levando-se em consideração a baixa umidade, e o elevado conteúdo lipídico, proteico, e energético, além das vitaminas e dos minerais (COSTA; JORGE, 2011; WICKENS, 1995).

Entre as vantagens do uso das castanhas na alimentação, além da alta qualidade nutricional, têm-se ainda o elevado teor de minerais como selênio, manganês, magnésio, zinco, cobre e ainda teores importantes de ácido fólico, fosfolipídios, tocoferóis e fitoesteróis, o que caracterizam-nas como alimentos naturalmente funcionais (COSTA; JORGE, 2011).

Levando-se em consideração todas estas características, as castanhas tornam-se muito mais atrativas tanto para o consumo *in natura*, quanto para enriquecimento de outros alimentos.

1.2. *Lecythis pisonis* Cambess.

A *Lecythis pisonis* Cambess. (**Figura 1.1a**) é uma árvore pertencente à família Lecythydaceae, constituindo um gênero neotropical que possui ocorrência natural em países como Colômbia, Peru, Guiana, Suriname, Venezuela e Brasil (ITTO, 2018; MORI *et al.*, 2016; MORI; PRANCE, 1981; SOUZA *et al.*, 2014). O gênero *Lecythis* faz parte da mesma família da castanha-do-Brasil, sendo diversificada e abundante na Amazônia e considerada um indicador de florestas de terras baixas não perturbadas ou pouco perturbadas¹ (MORI *et al.*, 2007).

No Brasil a *L. pisonis* ocorre naturalmente na Amazônia ao norte nos Estados do Amapá, Amazonas e Tocantins, e em estados do nordeste como o Maranhão, Piauí, Bahia, Alagoas, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe, chegando até a floresta Atlântica e os Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Santa Catarina (ITTO, 2018; MORI *et al.*, 2016; MORI; PRANCE, 1981; SOUZA *et al.*, 2014). Ainda não há registros da ocorrência da *L. pisonis* no Estado do Paraná, embora haja sua presença nos Estados circunvizinhos (Santa Catarina e Rio Grande do Sul).

A nomenclatura da *L. pisonis* varia de acordo com as regiões onde é encontrada, conforme se segue: sapucaia e sapucaia de pilão (Alagoas e Paraíba, Brasil); castanha de sapucaia (Amazonas e Tocantins, Brasil); cambuca de macaco, castanha de sapucaia, combuca de macaco, marmita de macaco e sapucaia (Bahia, Brasil); sapucaia (Maranhão, Ceará e Sergipe, Brasil), sapucaia vermelha (Espírito Santo e São Paulo, Brasil); caçamba de macaco, caçambeira, castanha sapucaia, castanheira, cumbuca de macaco, mamiteira e sapucaia (Minas Gerais, Brasil); coco de sapucaia e sapucaia (Pernambuco, Brasil); coco (Panamá); coco cristal, coco mono (Colômbia); coco de mono, olla de mono (Venezuela); kwattapatoe (Suriname); machin mango (Peru); monkey pot (Guiana) (ITTO, 2018).

¹ Área alterada ou perturbada: área que após o impacto ainda mantém meios de regeneração biótica, ou seja, possui capacidade de regeneração natural. FONTE: IBAMA (2011)

A germinação das sementes ocorre entre 7-10 dias e o crescimento da árvore é considerado rápido, atingindo cerca de 60 cm após 1 ano e até 4 m após 5 anos. Entre 8-10 anos de idade as árvores têm seu início de frutificação, chegando a produzir entre 12-20 frutos no primeiro ano, e até 81 frutos 2 anos depois. A média de massa das sementes é de 5,5 g, e árvores adultas podem produzir até 80 kg de sementes anualmente (BRAGA *et al.*, 2007; WICKENS, 1995).

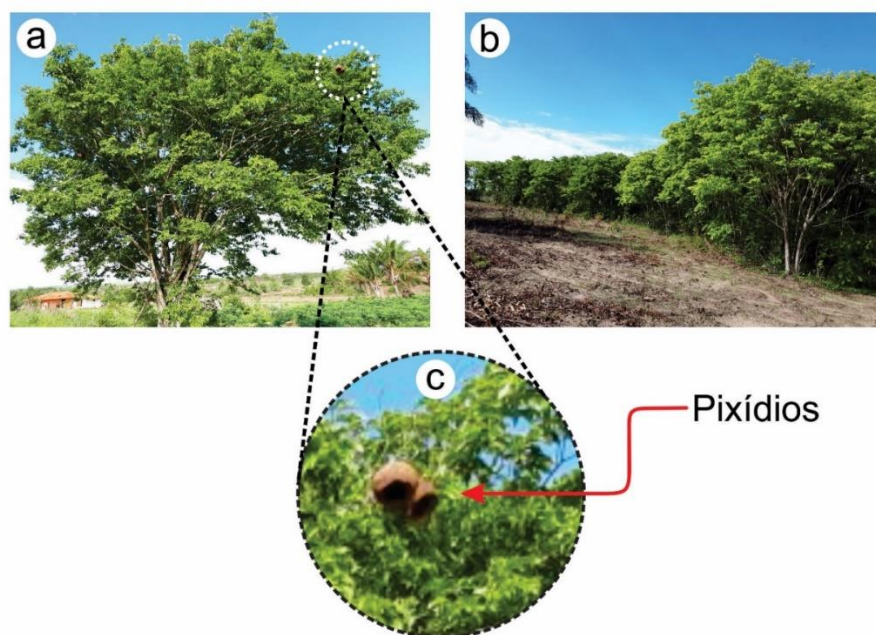


Figura 1.1 Árvore jovem de *Lecythis pisonis* Cambess. (a); uma “minifloresta” de *L. pisonis* (b); e o detalhe de dois pixídios abertos que permanecem na árvore (c). FONTE: O autor (2018).

A árvore da sapucaia possui altura média de 30 m (LEÃO *et al.*, 2016), podendo atingir até 50 m (SOUZA *et al.*, 2014), apresentando importância econômica e ecológica, por servir, entre outras coisas, como sombreamento em plantações de cacau em sistemas agroflorestais brasileiros (RODRIGUES *et al.*, 2015). Em propriedades rurais do Maranhão, a ocorrência da sapucaia é muito comum, pois são propagadas facilmente pela fauna local, produzindo “miniflorestas” desta espécie espontaneamente, uma vez que espalhadas as sementes, várias árvores nascem próximas umas das outras (**Figura 1.1b**), contribuindo naturalmente com a regeneração de florestas.

As folhas da árvore são usadas na medicina popular como fitoterápico contra prurido, dor muscular e úlcera gástrica, conhecimentos estes reforçados por pesquisa que comprova o efeito antinociceptivo (que anula ou reduz a percepção e

transmissão de estímulos que causam dor) de extratos etanólicos de folhas de *L. pisonis* em ratos (BRANDÃO *et al.*, 2013), e também seu efeito anti-prurido (SILVA *et al.*, 2012). Adicionalmente, foi comprovado que esses extratos ainda possuem elevada atividade antioxidante, e altos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides (FERREIRA *et al.*, 2014), além de serem eficazes na inibição do crescimento de células de tumores como o carcinoma do colón humano, glioblastoma e melanoma humano (OLIVEIRA *et al.*, 2012a).

O período de florada e frutificação da sapucaia acontece durante o inverno e a primavera no hemisfério sul (VALLILO *et al.*, 1998). No Brasil a florada varia muito de Estado para Estado: de janeiro a junho, no Pará; de julho a novembro, no Espírito Santo; de julho a janeiro, em Tocantins; de agosto a janeiro, em Minas Gerais e em Pernambuco; em setembro, no Amazonas; de agosto a janeiro, na Bahia; de outubro a dezembro, nos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo e de novembro a dezembro, no Maranhão. Em Santa Catarina ocorre em novembro. A floração ocorre simultaneamente com o aparecimento de folhas e estas permanecem vermelhas/róseas durante toda a floração (ITTO, 2018).

A coloração das flores, que varia do azul escuro ao violeta intenso, chama bastante a atenção, e durante a primavera, há a mudança de coloração nas folhas para tonalidades róseas tornando a árvore ainda mais exuberante. Por causa dessa característica, muitos exemplares foram plantados pelo país na arborização urbana ou em jardins botânicos (SOUZA *et al.*, 2014) como plantas ornamentais como no caso da cidade do Rio de Janeiro, onde há uma “alameda das sapucaias”, às proximidades do museu de história nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), além de vários outros exemplares no jardim botânico.

A despeito da frutificação, os frutos (**Figura 1.2**) amadurecem de dezembro a abril, em Pernambuco e no Estado de São Paulo; de março a abril, em Minas Gerais; de março a maio, na Bahia; de julho a setembro no Espírito Santo; e em agosto no Estado do Rio de Janeiro. O fruto amadurece 7 meses após a fecundação das flores (ITTO, 2018). De tamanho grande e casca lenhosa e dura, os frutos de sapucaia são cápsulas pendentes (popularmente chamadas de ouriço) do tipo pixídio² em formato de sino, chegando a medir 50 cm de diâmetro, e pesar até 2 kg

² Em forma de urna inviolável; fruto seco, deiscente, tipo de cápsula especial, cujos carpelos se abrem por uma tampa única e comum. Constituindo-se de duas partes: a urna onde estão inseridas as sementes, e o opérculo que é a tampa. FONTE: Andreata & Travassos (1994)

(VALLILO *et al.*, 1998; WICKENS, 1995), e chamam atenção por serem muitas vezes maiores que uma cabeça humana (MORI *et al.*, 2016).

Dois tipos do fruto são encontrados: um mais comprido e outro completamente arredondado; o primeiro mais comum ao Sul, e o outro mais frequente ao Norte da área de dispersão geográfica dessa espécie, porém podem ser encontrados os dois tipos juntos, inclusive na mesma árvore (ITTO, 2018). Após a frutificação, é comum alguns pixídios vazios permanecerem pendurados nas árvores por muito tempo (**Figura 1.1c**), até que caiam naturalmente na próxima época de frutificação.

Além dessas características, a casca possui fissuras e laminados, sendo os frutos de *L. pisonis* maiores que os encontrados em qualquer grupo de Lecythidaceae (HUANG; MORI; KELLY, 2015). O pericarpo, também lenhoso, possui entre 1-2 cm de espessura (WICKENS, 1995).

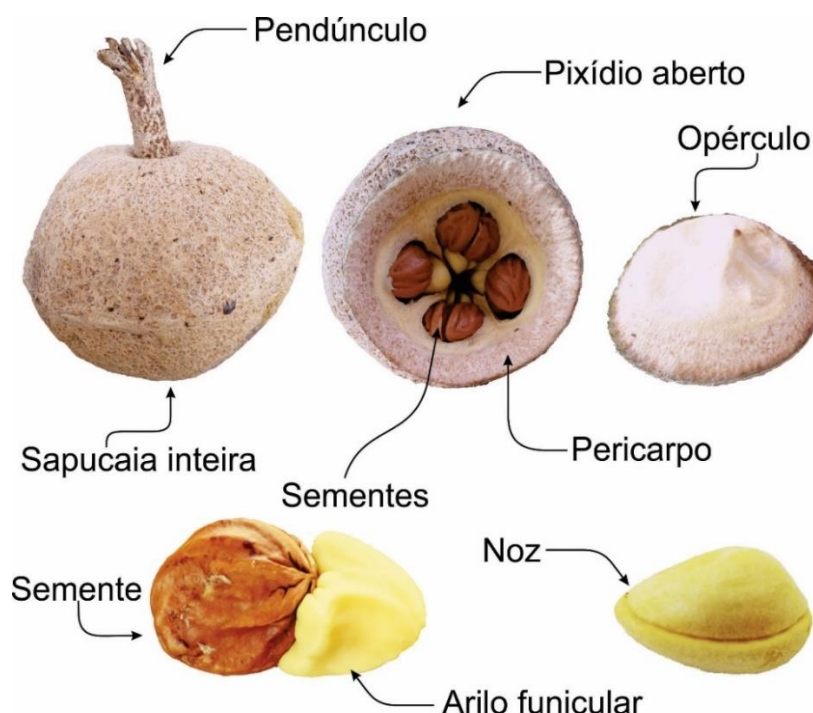


Figura 1.2 Ilustração do fruto da sapucaia exibindo detalhes do pixídio, opérculo, sementes e a castanha. FONTE: O autor (2018).

Quando maduros, o opérculo se desprende espontaneamente como uma tampa, expondo as sementes que permanecem dentro do pixídio (MORI *et al.*, 2016; VALLILO *et al.*, 1998) penduradas pelo arilo funicular por um tempo, até que o funículo se desprende, fazendo com que a semente caia naturalmente.

De formato irregular, as sementes (30-40 unidades) são grandes e fusiformes (WICKENS, 1995), angulosas e duras, mas de casca mais mole que a castanha do Brasil, lisa e brilhante, com 6 a 12 sulcos, com 4 a 6 cm de comprimento e 2,5 a 3 cm de largura e extremidades atenuadas na base; é envolta por um arilo polposo e esbranquiçado/amarelado, de sabor agradável (ITTO, 2018). O formato sulcado é exclusivo das sementes deste clado (WICKENS, 1995) (ver detalhes na **Figura 1.2**).

As sementes de sapucaia são aproveitadas como fonte alimentícia pela fauna selvagem (RODRIGUES *et al.*, 2015), que também colabora na semeadura, como já mencionado. A propagação nas florestas é feita por zoocoria³, principalmente por macacos (VALLILO *et al.*, 1998), e morcegos que, ao coletar a semente na árvore, comem a parte basal carnuda, e por não conseguirem quebrar a casca, desprezam a semente espalhando-as por onde passam (MORI *et al.*, 2016).

1.3. Características da sapucaia de interesse industrial

Da sapucaia o homem aproveita tudo, desde a casca até as sementes. A parte interna da semente, a castanha branca/amarela, de textura macia é comestível (MORI *et al.*, 2016; WICKENS, 1995). As castanhas de sapucaia são saborosas e nutritivas, e muito similares à castanha do Brasil. Por serem um pouco mais macias que a castanha do Brasil, em inglês também são referenciadas como castanha creme (*cream nut*) e “castanha do paraíso” (*paradise nut*) (WICKENS, 1995). Além disso, os frutos da *L. pisonis* constituem relevante fonte de lipídios (CARVALHO *et al.*, 2008; VALLILO *et al.*, 1999), indicando a extração do seu óleo como uma alternativa comercial destas sementes (COSTA; JORGE, 2012).

1.3.1. Propriedades físico-químicas da sapucaia

As características físico-químicas das sementes de sapucaia são apresentadas na **Tabela 1.1**. A sua composição química varia conforme diversos fatores, que vão desde a região geográfica onde foi produzida, até aos processos de extração utilizados. Como a maioria das castanhas, o teor de umidade é baixo,

³ Dispersão de sementes por animais. FONTE: ILLUZ, (2011)

variando entre 3 a 10%; por esta razão, os demais nutrientes estão naturalmente concentrados. O maior destaque é para o conteúdo lipídico que pode chegar a até 67%, o que faz desta castanha uma ótima excelente fonte de ácidos graxos. O teor de cinzas é considerado elevado ($> 3\%$), o que implica alto teor de minerais (VALLILO *et al.*, 1998).

O nível de proteínas na sapucaia também é considerado elevado, com quantidades que podem atingir entre 18 a 27%. A sapucaia também apresenta considerável conteúdo de carboidratos totais ($< 11\%$), sendo parte deles considerado fibras. Como consequência do elevado teor lipídico, o valor energético das castanhas de sapucaia também é alto, chegando a apresentar até 737 kcal/100 g (DENADAI *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; VALLILO *et al.*, 1998). Vitaminas B1 (0,31 g/100 g), B2 (0,27 g/100 g) e C (17,10 g/100 g) também são relatadas, enquanto PP (niacina) foi detectada (VALLILO *et al.*, 1998).

Tabela 1.1 Composição físico-química de castanhas de sapucaia

Característica	Vallilo <i>et al.</i>	Denadai <i>et al.</i>	Souza <i>et al.</i>	Carvalho <i>et al.</i>	Carvalho <i>et al.</i>	Demolier <i>et al.</i>
(%)	<i>al.</i> (1998)	<i>al.</i> (2007)	(2008)	<i>al.</i> (2008)	(2012)	(2018)
Umidade	4,92	5,04 \pm 0,03*	-	3,2 \pm 0,16*	10,20 \pm 0,68*	4,15-9,15
Cinzas	3,91	3,80 \pm 0,01*	3,43 \pm 11,16**	3,1 \pm 0,25*	3,17 \pm 0,50*	3,34-3,53
Lipídios	63,03	60,61 \pm 0,33*	65,99 \pm 4,59**	64,0 \pm 2,35*	54,80 \pm 4,15*	47,99-60,76
Proteínas	19,86	20,47 \pm 0,38*	19,62 \pm 8,77**	18,5 \pm 0,97*	26,82 \pm 2,60*	15,80-19,49
Fibras totais	-	5,67 ^a	-	7,0 \pm 0,77*	-	16,51-22,63 ^b
Carboidratos totais	8,28	-	-	11,1 \pm 2,13*	5,01	4,90-6,50
Calorias	684,00	645,05 \pm 2,07*	736,87 \pm 3,35**	-	620,52	414,31-616,57

(kcal 100 g⁻¹; ^a calculado por diferença; ^b fibras dietéticas totais; *média \pm desvio-padrão; **média \pm coeficiente de variação (%).

1.3.2. Conteúdo mineral da sapucaia

O teor de minerais encontrado em castanhas de sapucaia é apresentado na **Tabela 1.2**. Conforme comentado anteriormente, o teor de cinzas impacta diretamente no conteúdo mineral das castanhas. Muitos minerais estão presentes na sapucaia, com os maiores destaques para P, K, S, Mg e Ca, que são considerados os macro elementos com alto valor nutricional e recomendados na

dieta humana (DENADAI *et al.*, 2007; NAOZUKA *et al.*, 2011), o que reforçam a sua qualidade nutricional.

Tabela 1.2 Conteúdo mineral das castanhas de sapucaia

Elemento*	A	B	C	D	E	F
P	-	525,0-623,0	875	549,7-871,4	941,7	-
Ca	111	81,0-97,0	172	130,1-251,3	182,1	106,3-124,9
Mg	155	124,0-168,0	279	235,8-373,6	343,4	113,8-174,0
K	464	-	890	551,3-695,9	-	-
S	-	-	-	339,1-412,4	-	-
Mn	9,1	0,41-0,12	8,07	4,2-8,0	4,8	0,03-0,04
Zn	-	0,33-0,38	4,04	3,2-4,9	4,4	0,01-0,02
Cu	-	0,29-0,33	3,28	0,82-1,15	2,3	0,70-1,69
B	645	-	-	0,63-0,93	-	-
Ba	-	-	-	3,3-24,0	-	-
Na	-	-	0,53	-	-	0,22-0,53
Cd	-	0,03	-	-	nd	≤ 0,03
Cr	-	-	-	-	nd	0,03-0,04
Ni	-	-	-	-	0,5	0,04-0,38
Pb	0,09	0,33-0,38	-	-	0,4	0,04-0,05
Cl	-	-	-	<0,21	-	-
Fe	1,42	-	326,5	2,1-3,6	7,0	-
Al	0,49	-	-	0,31-0,77	6,9	0,16-0,45
As	0,03	0,11-0,12	-	-	nd	-
Mo	-	-	-	-	nd	nd
Se	0,03	-	-	-	-	0,03-0-05
Sn	0,01	6,91-7,70	-	-	-	0,75-1,75
Si	-	-	-	nd	-	-
Sr	-	-	-	1,2-6,9	-	-

nd: não detectado; *resultado em mg.100 g⁻¹. A = Vallilo *et al.* (1998); B = Vallilo *et al.* (1999); C = Denadai *et al.* (2007); D = Naozuka *et al.* (2011); E = Carvalho *et al.* (2012c); F = Demoliner *et al.* (2018).

A ingestão diária recomendada (IDR) para Ca, Mg, P, K, por exemplo são 1200, 420, 700 e 4700 mg (DENADAI *et al.*, 2007), e estas castanhas podem ajudar a suprir a demanda por estes minerais na dieta. É comum que castanhas apresentem elevados teores dos minerais supramencionados, sendo os valores elevados de P e S diretamente correlacionados à elevada concentração proteica nas sementes (NAOZUKA *et al.*, 2011).

Vallilo *et al.* (1999) encontraram elevado teor de Pb (metal pesado) em suas amostras de sapucaia, evidência de uma possível toxicidade, provavelmente por

conta de contaminação antrópica na localidade de coleta das amostras, o que comprometeria o consumo da sapucaia por humanos.

A presença de Ba na sapucaia, por outro lado, é relatada como surpreendente, já que o teor de minerais está ligado à presença destes no solo de cultivo, e não há evidências da presença de Ba nos locais de coleta das amostras estudadas por Naozuka *et al.* (2011); por outro lado, este mineral pode ter sido carregado também pela água, ou mesmo por contaminação de origem humana, como já comentado.

Atenção deve ser dada ao consumo desta castanha a fim de não exceder os valores de ingestão diária recomendada (IDR) de metais pesados. Estudos sobre toxicidade são sugeridos, pois há registro de amostras contendo teores de Pb acima dos limites de IDR recomendados pela legislação (CARVALHO *et al.*, 2012c), que é de no máximo 0,2 mg kg⁻¹/dia (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2001; DEMOLINER *et al.*, 2018).

1.3.3. Perfil de aminoácidos da sapucaia

O conteúdo de aminoácidos apresentado pela castanha de sapucaia é exibido na **Tabela 1.3**. A sapucaia possui uma excelente composição em aminoácidos, fornecendo elevados teores dos aminoácidos essenciais como leucina, treonina, valina, e histidina, atendendo a todas as recomendações para os aminoácidos essenciais com base no padrão recomendado pela FAO/WHO (WHO/FAO/UNU EXPERT CONSULTATION, 2007). A qualidade das proteínas de um alimento também é um item importante a ser considerado, mas além disso, outro fator que deve ser observado é a biodisponibilidade dos seus aminoácidos. A sapucaia possui comprovada digestibilidade *in vitro*, sendo significativa a digestibilidade de globulinas *in vitro* (DENADAI *et al.*, 2007).

As sementes de sapucaia apresentam também peptídeos com comprovada capacidade antimicrobiana e alto efeito inibitório (53,7%) contra patógenos como espécies de *Candida* (VIEIRA *et al.*, 2015). Pesquisas indicam que as castanhas de sapucaia estão livres de fatores antinutricionais como a lectina e inibidores de proteinase, pois os níveis destes são baixos ou indetectáveis. Isso é importante porque a qualidade da proteína presente na sapucaia pode ser afetada, uma vez que estes fatores antinutricionais interagem com as células do trato gastrointestinal,

reduzindo assim a digestibilidade da proteína ou a absorção dos aminoácidos (DENADAI *et al.*, 2007).

Tabela 1.3 Perfil de aminoácidos de castanhas de sapucaia

Aminoácido (aa.)	aa. em g 100 g ⁻¹ de proteína
Aspartato	8,27
Glutamina	18,70
Serina	4,55
Glicina	4,37
Histidina*	2,52
Arginina	12,30
Treonina*	3,47
Alanina	3,65
Prolina	5,10
Valina*	4,65
Metionina + Cistina*	6,06
Cisteína	0,63
Isoleucina*	2,99
Leucina*	8,01
Fenilalanina + Tirosina*	7,83
Lisina	5,10

*aa. essenciais. Fonte: Carvalho *et al.* (2012c)

1.3.4. Propriedades físico-químicas do óleo de sapucaia

A **Tabela 1.4** apresenta a composição físico-química de óleos de sapucaia extraídos através de prensagem a frio. O óleo recém extraído de sapucaia possui excelentes índices do padrão identidade e qualidade (PIQ), haja visto os baixos níveis de acidez e de peróxidos. Baixos valores destes parâmetros são indicativos de um óleo fresco, sem alterações químicas por ação de hidrólise, ou de oxidação, indicando boa conservação do óleo (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

O elevado índice de iodo (II) no óleo de sapucaia indica alto teor de ácidos graxos insaturados, uma vez este parâmetro está diretamente ligado ao grau de insaturações do óleo. Valor mais elevado de II significa maior grau de insaturação, resultando em um óleo líquido à temperatura ambiente em vez de uma gordura. Além disso, o valor de II está relacionado também à susceptibilidade do óleo à oxidação (TEIXEIRA *et al.*, 2018).

Cada tipo de óleo possui um índice de refração (IR) característico, que está relacionado com o grau de saturação das ligações, e também com compostos de oxidação e tratamento térmico, sendo também afetado por outros fatores tais como o teor de ácidos graxos livres (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008; JORGE *et al.*, 2005). O óleo de sapucaia apresenta IR entre 1,461-1,465, similar ao de muitos outros óleos vegetais, indicativo de um óleo fresco, recém extraído. Valores mais elevados do IR do que aquele padrão para cada óleo pode indicar exposição à altas temperaturas.

Tabela 1.4 Composição físico-química dos óleos de sapucaia obtidos por prensagem a frio

Característica	Vallilo <i>et al.</i> (1999)	Costa & Jorge (2012)
Acidez (mg KOH/g)	0,52-1,80	0,31 ± 0,01
Índice de peróxido (meq/kg)	-	0,27 ± 0,02
Índice de iodo (g I ₂ /100 g)	104-121	100,36 ± 0,25
Índice de refração (40 °C)	1,461-1,465	1,4643 ± 0,0002
Índice de saponificação (mg KOH/g)	-	188,83 ± 0,38
Matéria insaponificável (%)	-	0,32 ± 0,01
Estabilidade oxidativa (horas)*	-	24,89 ± 0,24

*análise no Rancimat a 100 °C

O índice de saponificação (IS) é importante em óleos, pois avalia a proporção de óleos ou gorduras compostos por ácidos graxos de baixa massa molar; em outras palavras, quanto menor a massa molar do ácido graxo, maior será o índice de saponificação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). O IS para o óleo de sapucaia de 188,83 indica que este óleo é formado por ácidos graxos de massa molecular semelhante ao da maioria dos óleos vegetais, como o de soja, milho, girassol e canola (COSTA-SINGH; BITENCOURT; JORGE, 2012).

O teor de matéria insaponificável na sapucaia é muito baixo, indicando a existência de poucos componentes como álcoois alifáticos de alta massa molar, esteróis, pigmentos e hidrocarbonetos. Inclui-se aqui também aquelas substâncias que frequentemente se encontram dissolvidas nas gorduras e óleos e que não podem ser saponificadas por tratamento usual com álcalis, mas são solúveis em solventes normais para gorduras e óleos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

De acordo com Costa & Jorge (COSTA; JORGE, 2012) os óleos de *L. pisonis* possuem alta estabilidade oxidativa à temperatura de 100 °C, apresentando índice de estabilidade oxidativa maior que 24 h. Isto indica potencial aplicabilidade do óleo em processos que utilizam altas temperaturas. Esta característica está associada ao conteúdo de compostos fenólicos com capacidade antioxidante presente nas castanhas, que consequentemente é carregado para os óleos e auxiliam na estabilidade oxidativa (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

1.3.5. Perfil de ácidos graxos do óleo de sapucaia

O perfil de ácidos graxos (AG) do óleo de sapucaia (**Tabela 1.5**) é bastante similar ao da castanha-do-Brasil, com elevados teores de ácidos graxos insaturados (AGI), chegando a apresentar ~85% de AGI (CARVALHO *et al.*, 2012c) e apenas cerca de 20% de ácidos graxos saturados (AGS) (COSTA; JORGE, 2012). Estas características químicas que exibem os baixos níveis de ácidos graxos saturados colaboram com as características físicas e influenciam diretamente no fato do óleo de sapucaia apresentar-se líquido à temperatura ambiente.

Tabela 1.5 Comparação do perfil de ácidos graxos da fração lipídica presente nos óleos de sapucaia

Ácido graxo (%)	Vallilo <i>et al.</i> (1999)	Costa & Jorge (2012)	Carvalho <i>et al.</i> (2012c)
Palmítico (C16:0)	10,68 ± 1,73	14,49 ± 0,24	11,29
Palmitoleico (C16:1)	-	0,21 ± 0,01	0,34
Esteárico (C18:0)	5,63 ± 2,34	5,84 ± 0,04	3,77
Oleico (C18:1 n9)	34,30 ± 8,35	38,82 ± 0,08	41,37
Linoleico (C18:2 n6)	46,85 ± 6,29	39,93 ± 0,11	42,86
Linolênico (C18:3 n3)	-	0,24 ± 0,01	0,24
Araquídico (C20:0)	-	0,22 ± 0,01	0,13
Beênico (C22:0)	-	tr	-
Outros	-	0,24 ± 0,01	-
Saturados	16,30 ± 2,94	20,76	15,19
Monoinsaturados	-	39,07	41,71
Poliinsaturados	-	40,18	43,10
Insaturados totais	83,65 ± 3,01	79,20	84,81

tr: percentagem < 0,1

AG importantes como o oleico e o linoleico são majoritários no óleo de sapucaia, atingindo entre 34-41% e 39-46% respectivamente. Os ácidos palmítico e esteárico aparecem em porcentagens menores que 14% e 6% respectivamente. Também são encontrados em menores quantidades ($< 0,3\%$) os AG palmitoleico, linolênico (ômega-3), araquídico e traços de beênico.

Estudo recente sugere ainda que a sapucaia seja um alimento capaz de minimizar ou prevenir doenças relacionadas à interação entre o estresse oxidativo e os mecanismos moleculares envolvidos na neurodegeneração. O seu consumo foi associado ao efeito neuroprotetor, devido às suas propriedades antioxidantes, que atuam na modulação de processos inflamatórios em tecidos cerebrais de ratos (MARTINS *et al.*, 2016).

1.4. Tecnologias de extração de óleos

1.4.1. Método Clássico 1: Soxhlet

O método convencional de extração de Soxhlet, há mais de um século tem sido usado com sucesso em extrações (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010) de uma série de produtos, superando outras metodologias por sua performance e eficiência, sendo usada também como método comparativo (LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998). Este método também foi modificado e adaptado ao longo do tempo com o acoplamento de outras técnicas como ultrassom e micro-ondas (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

A extração consiste no tratamento sucessivo e intermitente da amostra imersa em um solvente puro (éter de petróleo, éter dietílico ou n-hexano) no extrator, graças à sifonagem do solvente com o soluto para o balão que fica na base do aparelho e subsequente evaporação do solvente aquecido que condensa e retorna ao extrator. É um método simples e conveniente por apresentar praticamente um número quase infinito de repetições do ciclo de extração com solventes até a exaustão completa do soluto na matéria-prima (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009; LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998; LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Algumas das vantagens do Soxhlet são a renovação do solvente durante o processo sem necessidade de adição de mais solvente, o que aumenta o

coeficiente de partição e a eficiência da extração; não há necessidade de filtração, o que simplifica o tempo de manuseio do extrato após a extração e os riscos de perda e/ou contaminação do extrato (LUQUE-GARCÍA; CASTRO, 2003); a temperatura do sistema mantém-se relativamente alta, visto que o calor aplicado para o processo de evaporação é constante; é uma metodologia muito simples que não requer treinamento especializado e que possibilita a extração de uma quantidade maior de óleo em relação a outros métodos (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009).

1.4.2. Método clássico 2: Bligh & Dyer

Um dos procedimentos de extração mais versáteis e efetivos, que apresenta vantagens como a não ocorrência de reações de peroxidação e de hidrólise, é a metodologia apresentada em 1959 por Bligh & Dyer (BLIGH; DYER, 1959), que é na verdade uma versão simplificada do procedimento clássico usando clorofórmio-metanol proposto por Folch em 1957 (FOLCH. J.; LEES, M.; STANLEY, 1957).

O método de extração de Bligh & Dyer foi desenvolvido como um método rápido, mas eficaz, para determinar o teor total de lipídios no músculo dos peixes, porém desde seu desenvolvimento, ele tem sido usado para extração de conteúdo lipídico de uma ampla gama de matrizes. Além disso, os métodos baseados na mistura binária clorofórmio e metanol têm como diferencial a capacidade de extraírem tanto os lipídios neutros e os lipídios polares eficientemente (BRUM; ARRUDA; REGITANO-D'ARCE, 2009). Entretanto, o volume de solvente utilizado pelo método de Folch é maior que o Bligh & Dyer, sendo o último mais recomendado, inclusive, para extração de lipídios com foco na composição de ácidos graxos poliinsaturados (TONIAL *et al.*, 2009).

1.4.3. Tecnologia “verde”: fluidos pressurizados

Na indústria há uma demanda crescente por processos de extração mais rápidos, com menor consumo de solvente orgânico e uma reduzida carga poluente. Neste contexto, o processo de extração com fluidos pressurizados tem se destacado cada vez mais como técnica alternativa para a extração de produtos

naturais sem deixar resíduos tóxicos nos extratos (POONTAWEE; NATAKANKITKUL; WONGMEKIAT, 2015).

Esta técnica combina as vantagens de taxas de transferência de massa melhoradas, o que aumenta a difusão dos metabólitos secundários da matriz vegetal em um processo de extração com solventes considerado ecologicamente amigável. Tal método possui outras vantagens, tais como a inibição de enzimas nativas que degradam os compostos fenólicos, por conta do aumento da pressão de extração; além disso, o material vegetal processado não exige etapas de esterilização adicionais (SANTOS; MEIRELES, 2011).

Na condição supercrítica, as propriedades físico-químicas de um dado fluido (como por exemplo o CO₂), tais como a densidade, difusividade, constante dielétrica e a viscosidade podem ser facilmente controladas alterando a pressão ou a temperatura. Os fluidos supercríticos possuem densidades de líquido, maior coeficiente de difusão e baixa tensão superficial, o que resulta em uma fácil penetração do solvente supercrítico na estrutura porosa da matriz sólida para liberar o soluto (SHILPI; SHIVHARE; BASU, 2013).

Um fluido que vem sendo muito utilizado nos últimos anos em extrações pressurizadas visando a recuperação de material lipídico é o propano. Há várias pesquisas que utilizam propano na condição subcrítica como solvente de extração que comprovaram o seu grande poder de solvatação de óleos vegetais (NIMET *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2016b; SPARKS *et al.*, 2006; ZANQUI *et al.*, 2015, 2016).

Extrações com fluidos sub- e supercríticos ou com líquidos pressurizados têm sido utilizados em estudos objetivando a recuperação de extratos ricos em compostos bioativos, além de investigar o efeito de diferentes co-solventes no processo de extração (DA SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016). Considerada muito promissora por ser uma “tecnologia verde”, a técnica não gera de resíduos tóxicos nos extratos utilizar solventes de baixo impacto ambiental (CORREA *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2017; TEIXEIRA *et al.*, 2018).

1.5. Técnicas de caracterização de óleos

Existem diversas técnicas analíticas utilizadas na avaliação das propriedades dos óleos que vão desde as metodologias tradicionais de verificação

dos padrões de identidade e qualidade, até técnicas mais avançadas como o uso de espectroscopia e cromatografia (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A qualidade dos óleos é usualmente verificada através das análises que avaliam seu perfil físico-químico (ver **Tabela 1.4**), verificando fatores como grau de oxidação, acidez, indicativo de insaturações, além da estabilidade oxidativa. A composição química do óleo, por outro lado, pode ser avaliada através da cromatografia gasosa, que revela o perfil de ácidos graxos, conforme exibido na **Tabela 1.5** (CARVALHO *et al.*, 2012c; COSTA; JORGE, 2012; VALLILO *et al.*, 1999), ou por cromatografia líquida de alta eficiência, que é capaz de verificar o perfil de triacilgliceróis (GUEDES *et al.*, 2017; ZANQUI *et al.*, 2016).

Diversas outras características dos óleos podem também ser medidas através de técnicas alternativas como a espectroscopia de infravermelho; uma das mais utilizadas ultimamente tem sido o infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), capaz de verificar diversas características, inclusive alterações nos óleos e sua autenticidade, podendo ser usada no controle de qualidade e identificação de adulteração (ROHMAN; CHE MAN; YUSOF, 2014; ROHMAN; MAN, 2011; XU *et al.*, 2015; YANG; IRUDAYARAJ; PARADKAR, 2005).

Outras análises aplicadas na caracterização dos óleos vegetais incluem testes de estabilidade oxidativa (e.g. Rancimat, termogravimetria), ensaios reológicos (e.g. reologia oscilatória), e de transições de fase (e.g. calorimetria exploratória diferencial) que devem ser realizados a fim de otimizar condições de processamento e consumo de energia na indústria (SAMYN *et al.*, 2012; TEIXEIRA *et al.*, 2016).

Além das análises supracitadas, várias técnicas analíticas de verificação da atividade antioxidante (e.g. DPPH, ABTS, FRAP) e de quantificação dos níveis de compostos bioativos (e.g. compostos fenólicos totais) apresentados pelas amostras também têm sido aplicadas na avaliação das características de óleos vegetais. (AZHARI *et al.*, 2014; FRANCO *et al.*, 2014; MALACRIDA; KIMURA; JORGE, 2012; PARRY *et al.*, 2005; SIGER; NOGALA-KALUCKA; LAMPART-SZCZAPA, 2008). Estas técnicas têm disso aplicadas principalmente com foco em elucidar qual a contribuição desses compostos nas propriedades físicas e de estabilidade dos óleos vegetais. Com isso, encontram-se informações que ajudam a direcionar o correto uso dos produtos conforme o tipo de composto aplicado a alimentos, fármacos ou cosméticos.

1.6. Técnicas de caracterização de farinha desengordurada

A farinha desengordurada, produto da extração do óleo em vários casos não é considerada resíduo, por apresentar diversas características de interesse industrial, tanto para uso na produção de alimentos para alimentação humana (BHISE; KAUR; AGGARWAL, 2015; CHAN *et al.*, 2013; COSCUETA *et al.*, 2016; GANORKAR *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2012; GUIMARÃES *et al.*, 2012a; LING *et al.*, 2016; NAVARRO; RODRIGUES, 2016; PARK; PARK, 2016; SAIRAM; GOPALA KRISHNA; UROOJ, 2011; TRENTINI *et al.*, 2016; TURAN; CAPANOGLU; ALTAY, 2015), quanto para alimentação animal (BEN SALEM; MAKKAR, 2009; ÖNDER; ACAR, 2016; SUPRAYUDI *et al.*, 2016), além de seu uso como substrato na produção de cogumelos (PARDO-GIMÉNEZ *et al.*, 2016), filmes comestíveis para embalagens (OH; ROH; MIN, 2016), produção de emulsões (BREWER; FRANCO; GARCIA-ZAPATEIRO, 2016; TURAN; ALTAY; ÇAPANOĞLU GÜVEN, 2015), ou até mesmo na produção de adesivos (ZHENG *et al.*, 2017).

Dentre as técnicas analíticas utilizadas na caracterização desses produtos, capazes de gerar informações relevantes para a indústria de alimentos têm-se as análises térmicas (termogravimetria), análise morfológica (microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica), e de natureza amorfa (raios-X), e técnicas colorimétricas e espectroscópicas. Adicionalmente, outras análises também permitem averiguar as propriedades funcionais da farinha, como a capacidade emulsificante, poder de produção de espuma, e capacidades de absorção de água e óleo (BEN OTHMAN *et al.*, 2015; GUIMARÃES *et al.*, 2012a; LING *et al.*, 2016; OLOYEDE *et al.*, 2016; SILVA; GARCIA; ZANETTE, 2016), permitindo assim obter resultados palpáveis a diversas questões relacionadas à matriz em estudo e proporcionando um correto direcionamento industrial.

1.7. Considerações sobre a sapucaia

A árvore de *Lecythis pisonis* Cambess constitui importante espécime vegetal em países da América do Sul, bem como do Brasil. As castanhas extraídas do fruto da *L. pisonis* têm sido alvo de diversos estudos que revelam sua elevada qualidade nutricional, por seu elevado teor de lipídios e proteínas, além de

quantidades significativas de macro e de micronutrientes, bem como vitaminas e minerais. De seu óleo, destaca-se um conteúdo de mais de 80% de AGI, com destaque para o ácido oleico que compreende quase 50% do total de AG. Apesar da sapucaia possuir grande potencial para o consumo humano, pouco é encontrado na literatura que reforce sua utilização industrial. Por estes motivos, fazem-se necessários mais estudos com esta matriz, como a aplicação de tecnologias alternativas de extração, a fim de elucidar a influência dos processos de extração nas características dos óleos, sua composição química, bem como avaliar as suas propriedades térmicas, o perfil de triacilgliceróis, e ainda avaliar as propriedades funcionais do resíduo gerado após a extração dos óleos, com vistas ao aproveitamento total da matéria-prima, evitando assim o desperdício na cadeia de produção.

CAPÍTULO 2

Propriedades químicas, térmicas e reológicas e estabilidade de óleos extraídos dos frutos de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.): uma fonte potencial para a indústria de óleos vegetais

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente na *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* e sua formatação segue as normas do referido periódico (Anexo I)

Propriedades químicas, térmicas e reológicas e estabilidade de óleos extraídos dos frutos de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.): uma fonte potencial para a indústria de óleos vegetais

Resumo

A sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) é uma árvore que cresce na Colômbia, na Venezuela e nas Guianas e é amplamente distribuída no Brasil. Este trabalho apresenta um estudo sobre óleos de sapucaia (ODS) obtidos pelos métodos de Bligh & Dyer (LP1) e Soxhlet (LP2) e avaliados quanto à composição de ácidos graxos, propriedades reológicas e térmicas, compostos fenólicos totais (CFT), propriedades antioxidantes e estabilidade oxidativa usando Rancimat, e espectroscopia ATR-FTIR. As análises mostraram que o método de extração possui influência nos perfis de ácidos graxos do ODS. Os extratos de óleo apresentam um conteúdo considerável de CFT e propriedades antioxidantes. A análise térmica revelou três passos de degradação para o ODS na atmosfera de ar, iniciando em torno de 130 °C, permanecendo termicamente estável até 300 °C (com uma perda de massa de ~ 5%) e atingindo uma degradação total próxima de 620 °C. A análise térmica sob N₂ produziu dois passos de degradação, iniciando em cerca de 130 °C e terminando em 500 °C. Rancimat também confirmou a alta estabilidade térmica do ODS, com períodos de indução de 13,28 h (LP1) e 7,18 h (LP2). Os parâmetros DSC do ODS foram semelhantes entre si. Ocorreram fases de cristalização (-8,04 °C a -73,93 °C) e fusão (-31,34 °C a 8,28 °C) ao longo de uma grande faixa de temperaturas. Os ODS apresentaram características espectrais FTIR com bandas características para óleos vegetais. Os modelos reológicos de Ostwald-de Waele e Herschel-Bulkley indicaram comportamento pseudoplástico para o ODS, com componente viscoso predominante. Estes resultados reforçam que os ODS são apropriados para o consumo humano e abrem novas possibilidades para a sua exploração industrial, como no setor alimentício, cosmético e farmacêutico.

2.1. INTRODUÇÃO

Diversos tipos de sementes e castanhas brasileiras, especialmente da Amazônia, têm sido estudados nos últimos anos e a maioria das espécies apresenta compostos bioativos e potencial como alimento funcional (BERTO *et al.*, 2015; COSTA; JORGE, 2012; COSTA *et al.*, 2010; NAOZUKA *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2012b; QUEIROGA NETO *et al.*, 2009a). Outras espécies não são bem conhecidas ou não foram submetidas a qualquer outro estudo para elucidar suas características.

Lecythis pisonis Cambess., uma árvore da família Lecythidaceae que cresce no Brasil, na Colômbia, na Venezuela e nas Guianas, comumente conhecida como "sapucaia", produz castanhas parecidas com as da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*). As castanhas comestíveis da sapucaia têm um sabor leve característico e são consideradas mais digeríveis que a castanha-do-Brasil (WICKENS, 1995). Além da importância econômica e ecológica da sapucaia, que é frequentemente usada para o sombreamento de plantações de cacau em sistemas agroflorestais brasileiros (RODRIGUES *et al.*, 2015), as castanhas de *L. pisonis* são uma valiosa fonte de macro e micronutrientes, aminoácidos essenciais, minerais como P, K, S, Mg, Ca, Mn, Zn, Fe, Sr, Cu, B, Al e Cl (NAOZUKA *et al.*, 2011; VALLILO *et al.*, 1999) e fibras (CARVALHO *et al.*, 2008).

A composição centesimal das castanhas de sapucaia é apresentada na **Tabela 2.1**, que mostra as diferentes composições de acordo com diferentes autores.

Tabela 2.1 Composição centesimal da sapucaia de acordo com diferentes autores

Característica (%)	*Vallilo <i>et al.</i> (1999)	**Carvalho <i>et al.</i> (2008)	**Carvalho <i>et al.</i> (2012c)
Umidade	4,95	3,2 ± 0,16	10,20 ± 0,68
Cinzas	3,91	3,1 ± 0,25	3,17 ± 0,50
Lipídeos	63,03	64,0 ± 2,35	54,80 ± 4,15
Proteínas	19,86	18,5 ± 0,97	26,82 ± 2,60
Fibras totais	-	7,0 ± 0,77	-
Carboidratos totais	8,28	11,1 ± 2,13	5,01

*Resultados sem desvio-padrão; **média ± desvio-padrão

Os lipídios constituem entre 51 e 64% da composição das castanhas de sapucaia (CARVALHO *et al.*, 2008; COSTA; JORGE, 2012; VALLILO *et al.*, 1999; WICKENS, 1995) e destes, o ácido linoleico (um ácido graxo essencial) é predominante (CARVALHO *et al.*, 2012c). Além disso, o conteúdo de proteína varia de 18-26%, enquanto os carboidratos variam de 5-11% (CARVALHO *et al.*, 2008; COSTA; JORGE, 2012; VALLILO *et al.*, 1999; WICKENS, 1995).

Embora a sapucaia possua potencial para ser considerada uma cultura que forneça matéria-prima para a produção de óleo vegetal, os estudos que têm sido conduzidos sobre essas castanhas concentraram-se principalmente em seus perfis de minerais e ácidos graxos (CARVALHO *et al.*, 2012c; COSTA; JORGE, 2012; DENADAI *et al.*, 2007; NAOZUKA *et al.*, 2011; VALLILO *et al.*, 1999). As pesquisas mais recentes estão limitadas a apresentar aspectos agrônômicos, microbianos e farmacológicos (BRANDÃO *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2012; VIEIRA *et al.*, 2015). Óleos vegetais, por sua vez, são amplamente utilizados nas indústrias de alimentos, cosméticos, fármacos e biocombustíveis. Consequentemente, testes de estabilidade, ensaios reológicos, e de transições de fase devem ser realizados a fim de otimizar condições de processamento e consumo de energia (SAMYN *et al.*, 2012; TEIXEIRA *et al.*, 2016).

Não foram encontradas referências relativas aos compostos fenólicos totais, à atividade antioxidante ou à caracterização térmica e reológica do óleo de castanha de sapucaia. Portanto, o objetivo deste trabalho foi extrair os óleos de sapucaia utilizando os métodos de Bligh & Dyer e Soxhlet, e avaliar os óleos quanto à sua composição de ácidos graxos, de compostos fenólicos totais (CFT), as propriedades antioxidantes, e a estabilidade oxidativa usando Rancimat, o comportamento reológico, as propriedades térmicas usando a técnica de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e a Termogravimetria (TG), além de Espectroscopia de Infravermelho de Refletância Total Atenuada com Transformada de Fourier (ATR-FTIR).

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Reagentes

Reagente de Folin-Ciocalteu, Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), TPTZ [2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina], DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico] e ácido gálico (98,0%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO., EUA). Outros reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico. As soluções aquosas foram preparadas utilizando água ultrapura.

2.2.2. Amostras

As amostras de sapucaia (*Lecythis pisonis*) foram coletadas no período de agosto de 2016 em uma área rural localizada na cidade de Araguanã/MA, Brasil (Latitude: 3°02'06.9"S; Longitude: 45°38'31.3"W). As castanhas (**Figura 2.1**) foram secas numa estufa de circulação de ar (40 °C durante 24 h). As cascas da sapucaia foram removidas manualmente com o auxílio de uma faca de aço inoxidável. Após serem congeladas, as castanhas foram liofilizadas (Liotop L101, Liobras, Brasil). A umidade residual das amostras era de $4,07 \pm 0,90\%$. Antes da extração do óleo, as amostras de sapucaia foram trituradas por 30 segundos com auxílio de um moinho de facas de aço inoxidável (MA630/1, Marconi Ltda., Brasil) para então serem direcionadas às extrações.



Figura 2.1 Castanhas e óleos de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.). FONTE: O autor (2018).

2.2.3. Extração dos óleos

O conteúdo lipídico das amostras de castanhas de *L. pisonis* foi extraído no Laboratório Bioativos nas Usinas Piloto da UFPR usando o método de Bligh &

Dyer com clorofórmio, metanol e água (1:2:0,8 (v/v)) descrito em detalhes no método oficial Ba 3-38 da American Oil Chemists' Society (AOCS), e também usando *n*-hexano com o aparelho Soxhlet (Vidrolabor®, Labor Quimi, Brasil) (AOCS, 1997) por 6 horas. Os óleos foram denominados LP1 e LP2, respectivamente. Após as extrações dos óleos, os solventes foram removidos a 43 °C sob pressão reduzida utilizando um evaporador rotativo (Modelo 801, Fisatom Ltda., Brasil). As amostras foram levadas ainda a estufa de circulação de ar a 45 °C (Solab, Brasil) por 1 hora, e depois submetidas a jatos de N₂ gasoso antes do armazenamento. O rendimento foi de 49,50 ± 0,50% (LP1) e 55,20 ± 0,10% (LP2) de óleo. Os óleos foram envasados em frascos âmbar e armazenados a -10 °C até as análises.

2.2.4. Métodos analíticos

2.2.4.1. Teor de água e determinação do pH

O teor de água foi medido por titulação volumétrica de Karl Fischer utilizando um sistema de titulação (V30 Mettler-Toledo, Suíça) (METTLER TOLEDO, 2013). O pH foi determinado conforme método farmacopeico recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, sem diluição prévia do óleo, com auxílio de um potenciômetro digital (Modelo PG1800 Gehaka), diretamente inserindo o eletrodo na amostra a 25 ± 2 °C, de acordo com Pena Muniz *et al.* (2015). Os resultados representam a média de três medidas.

2.2.4.2. Composição de ácidos graxos

A composição de ácidos graxos dos óleos frescos de *L. pisonis* foi investigada utilizando o Método Oficial da AOCS Ce 1a-13 (AOCS, 1997) com um sistema cromatógrafo gasoso (GC-2010) acoplado a um espectrômetro de massa (GCMS-TQ8030) e sistema de injeção automática (Shimadzu, Japão). As amostras de óleo solubilizadas com hexano foram metiladas como descrito pelo método AOCS Ce 2-66 e depois injetadas numa coluna capilar HP88 (60 m × 0,250 mm id, 0,2 µm, Agilent Technologies) utilizando Hélio (99,999%) como gás carreador (0,64 mL/min). A temperatura de injeção foi de 250 °C, enquanto a do forno foi

programada para 175 °C (isotérmica) e o detector foi mantido a 250 °C. Uma alíquota de 1 µL da amostra foi injetada utilizando o modo de injeção com divisão de fluxo (split, 1:100). A composição de ácidos graxos foi expressa como a percentagem da área total do pico de todos os ácidos graxos na amostra de óleo.

2.2.4.3. Caracterização reológica

As medições reológicas dos óleos foram realizadas no laboratório de Reologia do Departamento de Bioquímica da UFPR, de acordo com Teixeira *et al.* (2016), utilizando um reômetro Haake Mars II (Thermo Electron GmbH, Alemanha) com um sensor cone-placa (C60/2° Ti L, 60 mm de diâmetro, 2° ângulo de cone). As medidas calculadas foram:

- a) curva de fluxo ($\dot{\gamma} = 0,01-500 \text{ s}^{-1}$, $t = 300 \text{ s}$);
- b) varredura de tensão ($\tau = 0,01-100 \text{ Pa}$, $\omega = 1 \text{ Hz}$) e subsequente varredura de frequência ($\omega = 0,1-100 \text{ Hz}$, $\tau = 1,0 \text{ Pa}$);
- c) rampa de temperatura ($T = 10 \text{ a } 60 \text{ °C}$, 2 °C/min , e $60 \text{ a } 10 \text{ °C}$, 5 °C/min ; $\omega = 1 \text{ Hz}$, $\tau = 1,0 \text{ Pa}$).

As amostras foram cobertas com um acessório para evitar interferência da temperatura ambiente. As rampas de temperatura foram realizadas a uma tensão constante de 0,5% na região viscoelástica linear. O coeficiente de determinação (R^2) e o qui-quadrado (χ^2) foram escolhidos para avaliar o ajuste dos modelos Ostwald-de Waele (**Eq. 1**) e Herschel-Bulkley (**Eq. 2**) às curvas de fluxo obtidas experimentalmente:

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad \text{– Ostwald-de Waele (OW)} \quad (1)$$

$$\tau = \tau_{0H} + K_H(\dot{\gamma})^{n_H} \quad \text{– Herschel-Bulkley (HB)} \quad (2)$$

onde τ é a tensão de cisalhamento (Pa), $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento (s^{-1}), τ_{0H} é a tensão de cisalhamento do modelo HB (Pa), K e K_H são os coeficientes de consistência (Pa.s^n) e n e n_H são os índices de comportamento de fluxo (adimensionais).

O efeito da temperatura na viscosidade aparente foi avaliado de acordo com uma equação de Arrhenius (**Eq. 3**), utilizando uma taxa de cisalhamento de $53,4 \text{ s}^{-1}$.

$$\eta = \eta_0 \exp\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (3)$$

onde η é a viscosidade aparente a uma taxa de cisalhamento específica, η_0 é o fator pré-exponencial, E_a é a energia de ativação (J.mol^{-1}), R é a constante dos gases ($8,31 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) e T é a temperatura absoluta (K).

2.2.4.4. Índice de Estabilidade Oxidativa

O índice de estabilidade oxidativa (OSI, do inglês *oxidative stability index*), também denominado Período de Indução (IP, do inglês *Induction Period*), foi estimado em um equipamento Rancimat modelo 743 (Metrohm, Herisau, Suíça), seguindo o Método Oficial AOCS Cd 12b-92 (AOCS, 1997). Resumidamente, as condutividades da água foram continuamente medidas enquanto se fazia borbulhar ar (20 L/h) para o óleo ($3,0 \pm 0,1 \text{ g}$), que foi aquecido a $110 \text{ }^\circ\text{C}$, e os compostos voláteis foram recolhidos em frasco contendo água, onde a condutividade era continuamente medida. O tempo necessário para atingir o ponto de inflexão da condutividade foi registrado. O IP foi calculado pelo *software* Rancimat 743 v. 1.1.

2.2.4.5. Espectroscopia no Infravermelho

A análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada no Laboratório de Espectroscopia de Absorção no Infravermelho do Departamento de Química da UFPR utilizando um espectrômetro Vertex-70 (Bruker, EUA) com um acessório de refletância total atenuada (ATR), a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. As amostras de óleo foram colocadas uniformemente no cristal ATR (área ativa de $1,5 \text{ mm}$). Os espectros FTIR foram registrados na faixa de números de onda de 4000 a 600 cm^{-1} com uma resolução espectral de 4 cm^{-1} .

2.2.4.6. Análises térmicas por termogravimetria - decomposição térmica

As análises de termogravimetria (TGA) foram realizadas em um equipamento TGA 4000 (PerkinElmer Inc. Waltham, EUA). Uma amostra de óleo (~ 10 mg) foi colocada na panela de platina e depois levada ao forno. A amostra foi aquecida de 30 °C a 750 °C a uma taxa 10 °C min/min em atmosfera de ar sintético ou sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 70 mL/min. Os dados sobre as mudanças na massa das amostras de óleo foram obtidos usando o *software* Pyris™. As curvas termogravimétricas (TG) e derivadas termogravimétricas (DTG) foram analisadas adicionalmente com o *software* Origin 8.6 (OriginLab, Massachusetts, EUA). A estabilidade térmica foi medida a partir da extrapolação da temperatura de início do primeiro passo de decomposição térmica das respectivas curvas TG. A temperaturas de início e máxima dos respectivos picos DTG foram utilizadas como limites de temperatura para o *software* de análise de dados do instrumento.

2.2.4.7. Análises térmicas por calorimetria diferencial de varredura

Na análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC), utilizou-se um equipamento DSC 8500 (PerkinElmer Inc. Waltham, EUA). Nitrogênio (99,99% de pureza, White Martins, Brasil) com fluxo de 20 mL/min foi o gás de arraste. O instrumento DSC foi previamente calibrado com Índio (p.f. 156,6 °C, $\Delta H = 28,45$ J/g). A amostra foi pesada em uma panela de alumínio e selada. Uma panela de alumínio vazia, hermeticamente fechada foi usada como referência. Para reduzir os gradientes de temperatura, foi utilizada uma pequena quantidade de amostra (~ 9,0 mg). A metodologia foi adaptada de Zhang *et al.* (2013).

Para produzir curvas de cristalização e fusão, as amostras foram primeiro aquecidas rapidamente a 80 °C numa taxa de 30 °C/min, da temperatura ambiente (~25 °C) e mantidas durante 10 min. Em seguida, as amostras foram arrefecidas a -80 °C na taxa de 10 °C/min, e mantidas durante 10 min para garantir que elas se cristalizassem completamente; depois as amostras foram aquecidas a 80 °C na taxa de 5 °C/min. A fim de estudar o efeito da taxa de arrefecimento na cristalização dos óleos, as amostras foram rapidamente aquecidas a 80 °C a na taxa de 30

°C/min a partir da temperatura ambiente, mantidas durante 5 min e depois as amostras foram arrefecidas a -80 °C às taxas de arrefecimento de 2 °C/min, 5 °C/min ou 10 °C/min. Para investigar o perfil de fusão dos óleos de *L. pisonis* sob cristalização isotérmica, as amostras foram aquecidas a 80 °C na taxa de 30 °C/min durante 5 min e depois arrefecidas a 100 °C/min às temperaturas predefinidas de -10 °C, 0 °C, 10 °C ou 20 °C, e mantidas a essas temperaturas durante 10 min para cristalização. Na sequência as amostras foram aquecidas a 80 °C na taxa de 5 °C/min.

O software Pyris™ foi utilizado para calcular os parâmetros de cristalização e fusão, entalpias e o teor de gordura sólida (SFC, *solid fat content*), que foi estimado com base na área integrada sob a curva de fusão dos óleos (MENARD; SICHINA, 2000).

2.2.4.8. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados usando o teste do reagente de Folin-Ciocalteu em extratos metanólicos dos óleos (BAIL *et al.*, 2008), produzidos a partir de 1,0 g de óleo. Resumidamente, para a extração dos fenólicos, 3,0 mL de solução metanol:água (90:10) foi adicionada ao óleo, seguida de agitação em *vortex* por 4 min e centrifugação a 15.000 rpm por 5 min. O procedimento de extração foi realizado três vezes para cada óleo. Os extratos metanólicos foram combinados e analisados na sequência usando o reagente de Folin-Ciocalteu. A quantificação dos CFT foi realizada usando a técnica de microplacas (SÁNCHEZ-RANGEL *et al.*, 2013), com ácido gálico como padrão para a curva de calibração. A absorbância a 720 nm foi medida utilizando-se um espectrofotômetro UV-Vis (Tecan Nanoquant Infinite® M200, Tecan Trading AG, Suíça) após a reação com o reagente Folin-Ciocalteu no meio alcalino deixado no escuro durante 1 h. Os CFT foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de óleo.

2.2.4.9. Atividade antioxidante dos extratos de óleo

O sequestro de radicais livres avaliado pelo ensaio DPPH foi determinada utilizando o método proposto por Brand-Williams *et al.* (1995), utilizando o extrato

metanólico do óleo. A absorbância a um comprimento de onda de 517 nm foi medida utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (Tecan Nanoquant Infinite® M200, Tecan Trading AG, Suíça). A atividade de sequestro do radical ABTS pelos extratos de óleo foi determinada utilizando o método descrito por Re *et al.* (1999). A absorbância foi medida a 734 nm. O potencial antioxidante total dos extratos de óleo foi medido usando o teste de poder antioxidante de redução férrica (FRAP) (BENZIE; STRAIN, 1996). As medições foram realizadas no espectrofotômetro a 593 nm. A absorbância das amostras foi comparada com uma curva padrão (100-1000 $\mu\text{mol/L}$) e os resultados foram expressos em equivalentes de mmol Trolox por g de óleo (mmol TE/g). As análises tiveram pequenas modificações propostas por Zielinski *et al.* (2016).

2.2.5. Análise de dados

O *software* Origin 8.6 (OriginLab, Massachusetts, EUA) foi utilizado para o tratamento de dados e a produção de gráficos. O Statistica 10.0 (Statsoft, Brasil) foi utilizado para análise estatística, incluindo cálculo de médias e desvios-padrão. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Conteúdo de água e pH aparente

Usualmente, o conteúdo de água em óleos vegetais é menor que 1%. Como esperado para este tipo de matéria-prima, as amostras de óleo de sapucaia (ODS) apresentaram teor de água muito baixo: $0,077 \pm 0,006\%$ para LP1 e $0,097 \pm 0,006\%$ para LP2. O baixo teor de umidade ajuda o óleo a manter boas propriedades contra oxidação. O resultado é similar ao reportado para castanha-do-Brasil ($< 1,0\%$) (PENA MUNIZ *et al.*, 2015), óleo de pequi (0,07%) (GUEDES *et al.*, 2017) e óleo de canola ($< 0,3\%$) (GHAZANI; MARANGONI, 2013). O pH do óleo de sapucaia foi de $5,720 \pm 0,036$ para LP1 e $5,353 \pm 0,040$ para LP2, menor que o óleo de castanha-do-Brasil (pH = 3,80) (PENA MUNIZ *et al.*, 2015), porém ambos com caráter ácido.

2.3.2. Compostos fenólicos e propriedades antioxidantes

Sementes são naturalmente fontes ricas de compostos fenólicos, que podem facilmente ser carregados para os óleos extraídos (VAN HOED, 2010). Os ODS avaliados apresentaram um conteúdo considerável de fenólicos, cujos valores diferenciaram-se ($p < 0,05$) conforme o método de extração aplicado (**Tabela 2.2**).

A amostra de óleo LP1 apresentou maior teor de compostos fenólicos totais (CFT) do que a LP2. O conteúdo de CFT presentes no óleo de sapucaia (1,418 mg de EAG/100 g em média) é maior do que no óleo de amêndoa (0,95 mg de EAG/100 g), similar ao óleo de avelã (1,59 mg EAG/100 g), e óleo de pinhão (1,48 mg EAG/100 g). Por outro lado, o óleo de castanha-do-Brasil pode apresentar conteúdo similar (1,53 mg EAG/100 g) (MIRALIAKBARI; SHAHIDI, 2008) ou até mesmo o dobro do teor de CFT (3,64 mg de EAG/100 g) encontrado no ODS; óleo de macadâmia por sua vez, apresenta quinze vezes mais CFT que o ODS (22,5 mg EAG/100 g) (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2016).

Tabela 2.2 Compostos fenólicos totais (CFT), e atividade antioxidante dos óleos de sapucaia medidas por diferentes métodos

Amostra	CFT (mg EAG/100 g)	DPPH*	ABTS*	FRAP*
LP1	1,590 ± 0,087 ^a	3,429 ± 1,866 ^a	8,715 ± 0,293 ^a	26,148 ± 0,150 ^a
LP2	1,246 ± 0,026 ^b	1,973 ± 0,727 ^a	5,585 ± 0,385 ^b	25,760 ± 0,385 ^a

Resultados expressos como a média ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). EAG = equivalentes de ácido gálico; *resultados em mmol equivalentes de Trolox por g de óleo (TE/g).

Elucidar o perfil antioxidante dos óleos comestíveis é importante porque os antioxidantes estão associados à supressão, o atraso ou impedimento de processos oxidativos prejudiciais, principalmente os causados por espécies reativas de oxigênio, desempenhando um papel crucial na vida útil, valor nutricional e qualidade do produtos alimentares e servindo como índice de qualidade (CHRISTODOULEAS *et al.*, 2015). A atividade antioxidante dos extratos fenólicos do ODS foi avaliada por três métodos diferentes e os resultados são mostrados na **Tabela 2.2**.

Os óleos apresentaram atividades de sequestro do radical, sugerindo que podem inibir os radicais livres *in vivo*. De acordo com os dados, não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras em ambos os ensaios de DPPH e FRAP. No entanto, o ensaio ABTS mostrou que a amostra LP1, que foi obtida por um processo de extração a frio, possui melhores características antioxidantes do que LP2. No estudo de Miraliakbari & Shahidi (2008) foram obtidos resultados similares ao presente trabalho, onde vários óleos, como os de castanha, noz pecan, avelã, pistache, e amêndoa extraídos pelo uso da mistura clorofórmio/metanol (como no método de Bligh & Dyer aqui utilizado) apresentam maior atividade antioxidante em comparação com os óleos extraídos com hexano.

O valor numérico na análise ABTS geralmente é maior que o ensaio DPPH, como indicado por Christodouleas *et al.* (2015), que também mostrou que o método ABTS apresenta maior sensibilidade para compostos hidrofílicos extraídos de matrizes ricas em lipídios frente ao DPPH, embora ambos os métodos tenham resultados comparáveis. Além disso, a **Tabela 2.2** mostra que o ODS apresenta poder de redução efetivo usando o método FRAP, que mede ambos os antioxidantes solúveis em água e óleo (BLOMHOF *et al.*, 2006), não exibindo diferença ($p < 0,05$) entre as amostras analisadas, demonstrando então que as propriedades de doação de elétrons do ODS podem neutralizar os radicais livres pela formação de produtos estáveis. De acordo com Blomhoff *et al.* (2006), a análise de FRAP tem as vantagens de medir diretamente os antioxidantes e redutores na amostra, enquanto outros métodos são mais indiretos, medindo a inibição de espécies reativas produzidas na mistura reacional.

Em geral, a amostra LP1, que foi obtida por um processo de extração a frio, apresentou melhores características antioxidantes do que a LP2. Alguns antioxidantes naturais, que são responsáveis pela proteção de sistemas biológicos de espécies reativas de oxigênio, são comumente presentes em óleos vegetais como compostos fenólicos, compostos carotenoides, fitoesteróis e tocoferóis (e.g. vitamina E) (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2009).

Os resultados dos ensaios antioxidantes *in vitro* apresentaram algumas variações que poderiam ser atribuídas aos diferentes mecanismos de cada análise (**Tabela 2.2**). Esses ensaios são agrupados na categoria de transferência de elétrons e há alguma especificidade entre eles. Os radicais cátions DPPH e ABTS têm o mesmo mecanismo e produzem uma cor característica que pode ser

monitorada por um espectrofotômetro. A mudança de cor ocorre quando o extrato de óleo é misturado com uma solução reagente e a forma reduzida do radical perde sua cor como resultado da doação de um átomo de hidrogênio. Da mesma forma, na presença de compostos antioxidantes, o FRAP é caracterizado pela capacidade de transferência de elétrons que resulta na redução de íons de ferro (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

2.3.3. Perfil de ácidos graxos

Quatorze ácidos graxos (AG) diferentes foram identificados nos óleos de sapucaia estudados (**Tabela 2.3**).

Tabela 2.3 Perfil de ácidos graxos dos óleos de sapucaia em comparação com outros estudos

Ácido graxo (%)	LP1*	LP2*	**	***
Mirístico (C14:0)	0,12	0,23	—	—
Palmitico (C16:0)	14,70	21,38	14,49	10,68
Heptadecanóico (C17:0)	0,11	0,17	—	—
Esteárico (C18:0)	9,63	11,09	5,84	5,63
Araquídico (C20:0)	0,45	0,38	0,22	—
Beénico (C22:0)	nd	3,99	tr	—
Σ AGS	25,01	37,25	20,76	16,30
Palmitoleico (C16:1)	0,32	0,44	0,21	—
Elaídico (C18:1 n9t)	nd	0,04	—	—
Oleico (C18:1 n9c)	44,28	35,54	38,82	34,30
<i>cis</i> -Vacênico (C18:1 n11c)	1,05	1,24	—	—
<i>cis</i> -11-Eicosenoico (C20:1 n9)	nd	1,87	—	—
Σ AGMI	45,66	39,08	39,07	34,30
Linoleico (C18:2 n6c)	27,19	21,65	39,93	49,35
α -Linolênico (C18:3 n3)	0,36	0,29	0,24	—
Araquidônico (C20:3 n3)	0,08	nd	—	—
Σ AGPI	27,63	21,95	40,18	—
Outros	—	—	0,24	—
Σ AGI total	73,29	61,02	79,25	83,65

Resultados são expressos como % de distribuição de ácidos graxos; nd: não detectado; tr: traços; AGS: ácidos graxos saturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos poliinsaturados. FONTE: *O autor (2018), **Costa & Jorge (2012); ***Vallilo *et al.* (1999)

Entre os AGMI, o ácido oleico foi o principal ácido graxo encontrado no óleo de sapucaia, representando 44,28% na amostra LP1 e 35,54% na amostra LP2. É importante notar que o ácido oleico é o principal ácido graxo ω -9 na dieta humana e é o AGMI predominante em muitos óleos de castanhas, totalizando 38,50% no

óleo de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) (PENA MUNIZ et al., 2015), 65,59% no óleo de garrapiña (*Dipteryx lacunifera*) (COSTA; JORGE, 2012), 67,62% em óleo de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) e 39,04% em óleo de cutia (*Couepia edulis*) (COSTA-SINGH; BITENCOURT; JORGE, 2012).

Os ODS foram compostos predominantemente (61-73%) por ácidos graxos insaturados (AGI). Os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) representaram 39,08%-45,66%, e 21,95%-27,63% foram ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), como os ácidos linoleico e α -linolênico (AG essenciais), que já possuem efeitos comprovados na redução do risco de câncer, osteoporose, doenças cardiovasculares e diabetes (MIŠURCOVÁ; AMBROŽOVÁ; SAMEK, 2011). O ODS também contém 21,65%-27,19% de ácido linoleico, um ácido graxo essencial que é importante para a saúde humana (ORSAVOVA et al., 2015). O óleo de *L. pisonis* ainda apresenta dois importantes AGMI *cis*-, o *cis*-vacênico e *cis*-11-eicosenóico em quantidades superiores a 1,0%.

Os ácidos graxos saturados (AGS) representaram 25,01%-37,25% dos ácidos graxos totais e foram principalmente compostos de ácido palmítico (14,70%-21,38%) e ácido esteárico (9,63%-11,09%). Outros AGS, como os ácidos mirístico, heptadecanóico e beênico, foram identificados em quantidades menores. O ácido araquídico, que geralmente está presente no óleo de amendoim, também foi encontrado no óleo de sapucaia em pequenas quantidades. Este resultado está de acordo com Costa & Jorge (2012) que encontraram cerca de 0,22% de C20:0 para o óleo de *L. pisonis*. Existe um perfil semelhante no óleo de castanha-do-Brasil, que contém 0,36% de ácido araquídico e 14,26% de ácido palmítico (PENA MUNIZ et al., 2015).

Esse perfil de ácidos graxos é comum para as castanhas comestíveis brasileiras (COSTA-SINGH; BITENCOURT; JORGE, 2012; COSTA; JORGE, 2012), o que reforça a ideia de que o consumo de mais castanhas ricas em ácidos graxos é benéfico para a saúde. Atualmente, a principal fonte comercial de AGPI, é o peixe e a gordura de peixe (MIŠURCOVÁ; AMBROŽOVÁ; SAMEK, 2011).

A qualidade de um óleo vegetal pode também ser avaliada pela composição de ácidos graxos e pela relação entre AGI e AGS. Além da própria relação AGI/AGS, uma grande quantidade de ácido linoleico em comparação com o ácido oleico (ω -9) representa um óleo vegetal de melhor qualidade (COSTA; JORGE, 2012) devido a uma maior biodisponibilidade no organismo humano. Os

óleos podem apresentar valores distintos para essa relação dependendo do método de extração, como mostrado na **Tabela 2.4**, onde os ODS apresentam relações de AGI/AGS e ácidos linoleico/oleico variando entre 1,63-5,13 e 0,609-1,44, respectivamente.

Os resultados destacaram que o ODS apresenta relação elevada de AGI/AGS independente do processo de extração; por outro lado, a razão entre os ácidos linoleico/oleico é altamente afetada pelo método de extração, e apresenta valores menores quando extraído pelos métodos de Bligh & Dyer e Soxhlet com hexano. Também é apontado que o ODS tem melhores características conforme o método de extração conforme se segue: Soxhlet com éter de petróleo > prensagem à frio > Bligh & Dyer > Soxhlet com hexano. Ambas as relações para os óleos de sapucaia são inferiores aos encontrados por Costa & Jorge (2012) e Vallilo *et al.* (1999), porque os óleos produzidos nesses estudos apresentaram maior teor de ácido linoleico (**Tabela 2.3**).

Tabela 2.4 Comparação entre a composição de ácidos graxos saturados e do óleo de sapucaia e outros óleos vegetais brasileiros

Óleo vegetal	Método de extração	Relação entre AGI/AGS	Relação entre AG linoleico/oleico
Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i>) *	Bligh & Dyer	2,93	0,614
Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i>) *	Soxhlet (hexano)	1,63	0,609
Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i>) ^a	Prensagem à frio	3,82	1,03
Sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i>) ^b	Soxhlet (éter de petróleo)	5,13	1,44
Castanha-do-Brasil (<i>Bertholletia excelsa</i>) ^b	Prensagem à frio	3,05	1,44
Castanha-do-Brasil (<i>Bertholletia excelsa</i>) ^c	Soxhlet (hexano)	3,08	1,517
Castanha de cutia (<i>Couepia edulis</i>) ^d	Prensagem à frio	1,39	0,32
Garampara (<i>Dipteryx lacunifera</i>) ^b	Prensagem à frio	3,45	0,14

Fonte: *O autor (2018); ^a Costa & Jorge (2012); ^b Vallilo *et al.* (1999); ^c Santos *et al.* (2012); ^d Costa-Singh, Bitencourt & Jorge (2012).

Quando comparados com outros frutos secos brasileiros, como a castanha do Brasil, a garampara (COSTA; JORGE, 2012) e a castanha de cutia (COSTA-SINGH; BITENCOURT; JORGE, 2012), os valores da relação de insaturação entre o ácido linoleico e o ácido oleico do ODS também foram bem diferentes (**Tabela**

2.4). Os resultados revelaram que o método de extração impacta expressivamente na composição dos óleos de sapucaia, e consequentemente, nas características de qualidade.

2.3.4. Índice de estabilidade oxidativa

O índice de estabilidade oxidativa (*oxidative stability index*, OSI) é uma parte importante da avaliação da qualidade do óleo, pois permite estimar a vida de prateleira (*shelf life*). O OSI foi avaliado pela análise no Rancimat até o ponto final de estabilidade para amostras de ODS e foi expresso em horas. Quanto maior o OSI, melhor a resistência à oxidação e maior é a vida útil do óleo; consequentemente, um óleo com alto OSI representa uma boa fonte de matéria-prima para a indústria de alimentos. Embora não haja um valor mínimo estabelecido para o OSI de óleos vegetais, quanto maior o seu valor, maior a estabilidade oxidativa do óleo, sugerindo maior vida de prateleira. A amostra de óleo LP1 foi a que apresentou maior resistência à oxidação, portanto, indicativo de maior *shelf life*, uma vez que exibiu $13,28 \pm 0,22$ h para OSI, enquanto LP2 teria menor vida de prateleira, pois seu OSI foi de apenas $7,18 \pm 0,50$ h.

Os resultados confirmaram que Bligh & Dyer, por ser extração a frio, é uma técnica que causa menos danos ao óleo do que o Soxhlet, uma vez que o primeiro apresentou quase o dobro do valor do OSI apresentado pelo último. Outra razão para a excelente estabilidade oxidativa dos óleos de sapucaia é devido à presença de antioxidantes naturais e polifenóis, que estão presentes em todos os óleos vegetais (SIGER; NOGALA-KALUCKA; LAMPART-SZCZAPA, 2008), como confirmado pelo conteúdo de CFT e ensaios de atividade antioxidante, sendo então responsáveis por melhorar a resistência à oxidação (CHRISTODOULEAS *et al.*, 2015; GHAZANI; MARANGONI, 2013; SIGER; NOGALA-KALUCKA; LAMPART-SZCZAPA, 2008).

Extratos de compostos fenólicos têm sido indicados como bons aditivos para óleos que apresentam baixa estabilidade oxidativa com o objetivo de melhorar o OSI (VAN HOED, 2010). Costa & Jorge (2012) encontraram um OSI de 24,89 h (análise no Rancimat a 100 °C) para ODS extraído por prensagem a frio. Nas mesmas condições de Rancimat utilizadas neste estudo (110 °C), foram

encontrados resultados semelhantes para os óleos de castanha-do-Brasil (8,24 h), de avelã (8,88 h), e de macadâmia (7,38 h) (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2016).

2.3.5. Degradação térmica

A curva termogravimétrica (TG) mostra a perda de massa (Δm) enquanto a curva termogravimétrica derivada (DTG) exhibe a taxa de perda de massa do ODS durante a decomposição térmica de 30 °C a 750 °C por TGA sob atmosfera de ar sintético (**Figura 2.2**, imagens à esquerda), ou nitrogênio (**Figura 2.2**, imagens à direita). Os valores de Δm são indicados na **Tabela 2.5**.

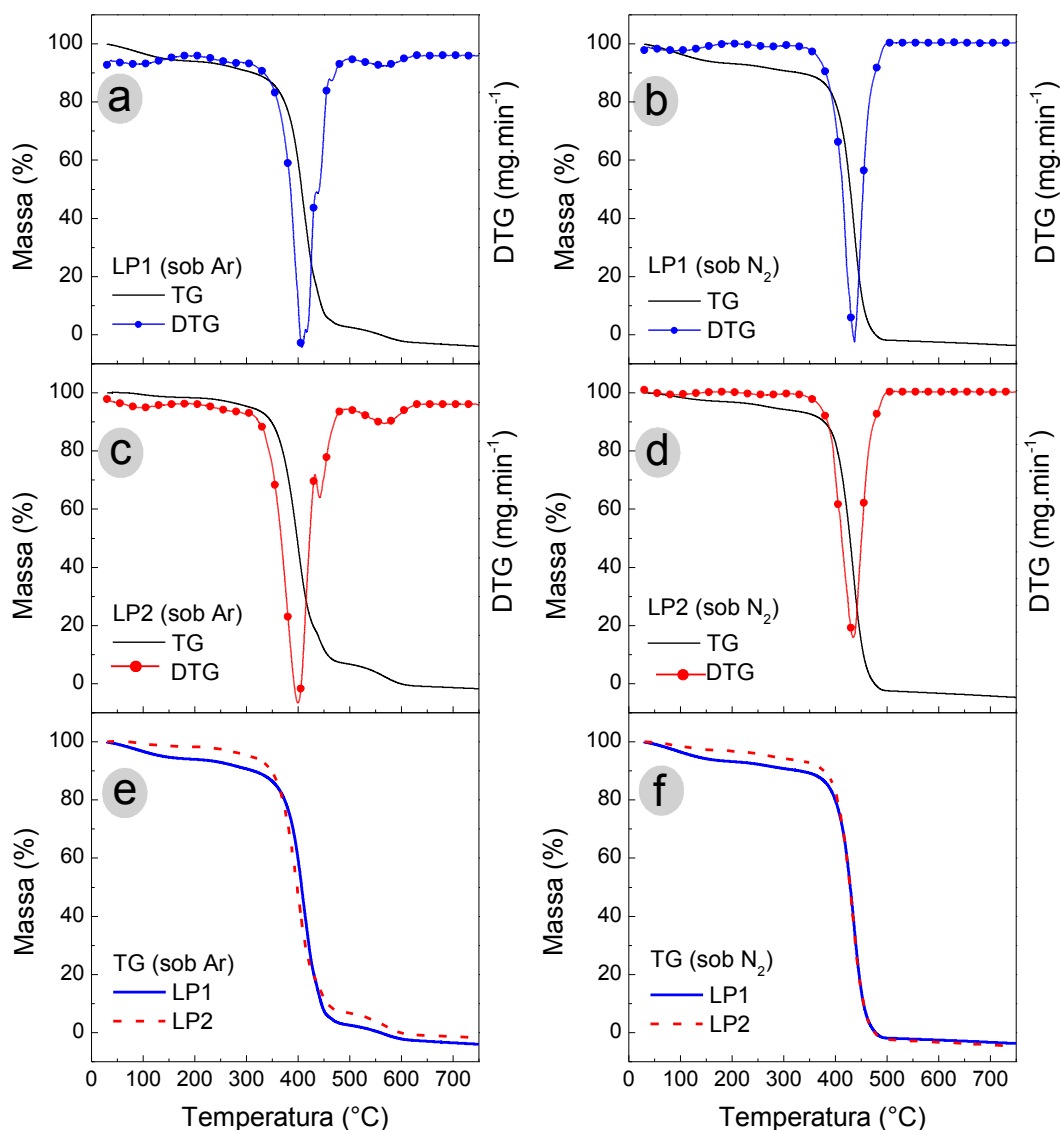


Figura 2.2 Curvas TG/DTG dos óleos de sapucaia obtidos usando os métodos de Bligh & Dyer (**a**, **b**) e Soxhlet (**c**, **d**), e uma comparação entre a perda de massa em função da temperatura (**e**, **f**) quando analisados sob ar sintético, e sob nitrogênio. FONTE: O autor (2018).

As curvas TG indicaram que o ODS foi termicamente estável até 303 °C com uma Δm de ~ 5%. Isso pode ser explicado pela perda de umidade e compostos voláteis nos óleos nesta primeira etapa. Sob ar sintético, observou-se um ligeiro aumento (~ 0,1%) na massa da amostra no início da oxidação (30-76 °C) atribuído à absorção de oxigênio e à formação de hidroperóxidos, causando um início de decomposição anterior ao registrado na amostra sob atmosfera de nitrogênio. O processo oxidativo em óleos vegetais é caracterizado inicialmente pela formação de produtos secundários (peróxidos) por oxidação. A fase seguinte corresponde à decomposição de AGMI, principalmente ácido oleico, AGPI (como o ácido linoleico) e a polimerização das substâncias que permanecem da fase anterior (QUEIROGA NETO *et al.*, 2009b).

As atmosferas dinâmica e inerte produziram padrões diferentes nos perfis TG/DTG. Uma comparação da perda de massa em função da temperatura é ilustrada nas **Figura 2.2e e f** onde os termogramas dos ODS são apresentados em uma sobreposição, destacando algumas diferenças entre amostras em cada atmosfera avaliada. Os processos de decomposição e carbonização na atmosfera de ar ocorreram em três fases da curva, começando em torno de 130 °C, atingindo 53-58% de perda de massa entre 405-440 °C e terminando em uma faixa de temperatura de 611-625 °C. Para a atmosfera de nitrogênio, o processo mostrou apenas duas etapas, iniciando a ~160 °C, atingindo 62-75% de perda de massa a 426-435 °C, e terminando a 500 °C.

Tabela 2.5 Dados de TG/DTG para cada estágio de degradação térmica dos óleos de sapucaia

Gás	Amostra	Estágio de degradação	T_i (°C)	T_m (°C)	T_f (°C)	Δm (%)
Ar sintético	LP1	I	128	362	405	58,2
		II	405	432	545	41,1
		III	545	587	625	0,7
	LP2	I	130	352	392	53,2
		II	392	409	440	34,4
		III	437	464	611	12,4
Nitrogênio	LP1	I	160	389	435	75,7
		II	435	450	500	24,3
	LP2	I	162	393	426	62,9
		II	426	445	500	37,1

T_i , temperatura inicial; T_m , temperatura máxima de perda de massa; T_f , temperatura final; Δm , perda de massa. FONTE: O autor (2018).

As curvas DTG (**Figura 2.2**) mostram os passos da decomposição térmica mais claramente. Nas temperaturas acima mencionadas, a Δm atingiu 100% (sem resíduo restante). O alto conteúdo de AGI no ODS, principalmente ácido oleico e ácido linoleico, está relacionado à ocorrência de reações de degradação oxidativa (PENA MUNIZ *et al.*, 2015). Os altos valores da temperatura de início (T_i) mostraram que os ODS possuem alta estabilidade térmica, pois quanto maior o valor da T_i da decomposição do óleo, maior a estabilidade. A massa total da LP1 foi diferente da LP2 nas temperaturas que variam de 350 a 550 °C (**Figura 2.2**) possivelmente devido ao alto teor de AGS (TENGKU-ROZAINA; BIRCH, 2016) na LP2 (37,25%) em comparação com LP1 (25,01%).

Os resultados aqui relatados para ODS são semelhantes ao do óleo da castanha-do-Brasil, que são termicamente estáveis até 209-220 °C e atingem uma Δm máxima de 97% a 580-602 °C (PENA MUNIZ *et al.*, 2015; QUEIROGA NETO *et al.*, 2009b). As disparidades entre os comportamentos térmicos dos óleos de sapucaia podem estar relacionadas às diferenças na composição de AG e à presença de antioxidantes naturais, que tendem a proteger os óleos contra a oxidação, retardando assim a degradação (GAO; BIRCH, 2016). Em geral, os óleos vegetais apresentam alto teor de tocoferóis. Uma vez que o perfil de tocoferóis do ODS ainda é desconhecido, são necessárias mais pesquisas para identificar o papel desses compostos na estabilidade oxidativa desses óleos.

2.3.6. Comportamento térmico de cristalização e fusão

2.3.6.1. Temperatura de cristalização e o impacto da taxa de varredura

Esses testes de DSC foram conduzidos para investigar o perfil de fusão do ODS sob cristalização isotérmica. O termograma de fusão (**Figura 2.3a, b**) revelou que, quando congelados a -10 °C, as amostras de óleo apresentaram picos endotérmicos a -6,81 °C (LP1) e a -16,16 °C (LP2), com uma entalpia de 9,28 J/g para LP1 e 7,26 J/g para LP2. Por outro lado, não houve evento térmico registrado após temperaturas maiores que 0 °C, revelando que nenhuma cristalização ocorreu acima dessa temperatura. Esta característica confirma o estado líquido do ODS à temperatura ambiente (25 °C).

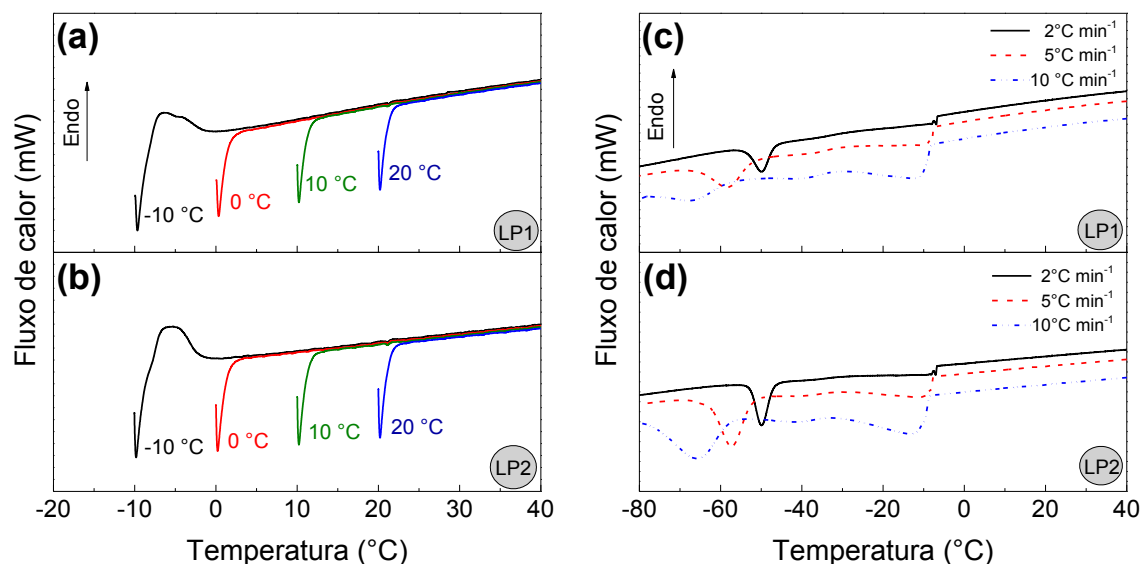


Figura 2.3 Termogramas de DSC dos óleos de sapucaia. Perfil de fusão sob cristalização isotérmica (a, b). Impacto da taxa de varredura de 2, 5 e 10 °C/min no comportamento de cristalização (c, d). FONTE: O autor (2018).

Durante o resfriamento, os óleos exibiram duas transições. As curvas mostraram que as posições das exotermas eram dependentes da taxa de resfriamento, enquanto a quantidade de exotermas não dependiam dessa taxa. Além disso, o aumento da taxa de resfriamento fez com que a temperatura do pico de cristalização se movesse para temperaturas mais baixas e causou um aumento na altura e área do pico (**Figura 2.3c, d**). Este comportamento pode corresponder à cristalização diferencial de triacilgliceróis (TAGs) de maior ponto de fusão, em primeiro lugar, e TAGs com ponto de fusão inferior em segundo lugar. Resultados semelhantes foram descritos para as frações de óleo de palma (ZHANG *et al.*, 2013).

A taxa de varredura de 2 °C/min reduz o atraso na resposta de saída do instrumento DSC, preserva os picos menores e reduz as tendências de suavização, que ocorreram em maiores taxas de varredura. No entanto, o primeiro pico foi muito pequeno em comparação com a taxa de 5 °C/min, que proporcionou melhor resolução para a análise de pico no *software* Pyris™.

2.3.6.2. Curva de resfriamento

Durante o resfriamento (**Figura 2.4a**), ambos os óleos de sapucaia apresentaram um perfil similar de cristalização, mostrando dois picos distintos (exotérmicos) no comportamento de cristalização, nomeadamente o pico 1 (P_{C1}) e

o pico 2 (P_{C2}). O P_{C1} indicou a mudança de líquido para sólido e foi encontrado a temperaturas de $-11,56\text{ }^{\circ}\text{C}$ (LP1) e $-12,51\text{ }^{\circ}\text{C}$ (LP2), enquanto o P_{C2} foi observado a temperaturas de $-59,80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-73,93\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ambos estavam relacionados à cristalização de TAGs. A temperatura de início da cristalização ocorreu em torno de $-8,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ e este processo prolongou-se em uma faixa de $15\text{-}23\text{ }^{\circ}\text{C}$. A soma da entalpia de cristalização dos dois picos para os dois óleos foram $-22,17\text{ J/g}$ e $-32,56\text{ J/g}$ para LP1 e LP2, respectivamente (**Tabela 2.6**). O calor é liberado durante a transição de fase do óleo da forma líquida para a forma sólida, de modo que os valores de entalpia de cristalização foram negativos (GAO; YANG; BIRCH, 2016).

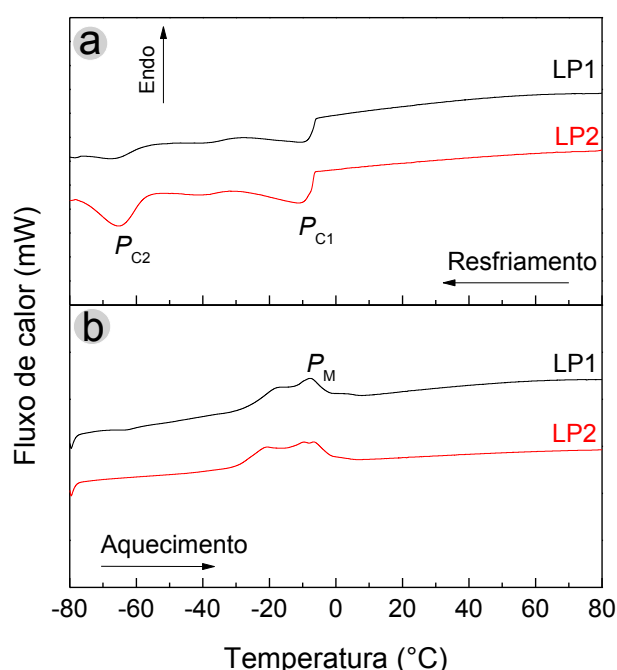


Figura 2.4 Termogramas de DSC dos óleos de sapucaia. (a) Termograma de cristalização durante resfriamento de $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. (b) Termograma de fusão durante aquecimento de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. FONTE: O autor (2018).

Diferentes picos endotérmicos e exotérmicos são exibidos de acordo com diferentes níveis de TAG do conteúdo de AG saturados ou insaturados nos óleos (LI *et al.*, 2016). Picos menores ou ombros também são correlacionados com os diferentes tipos de TAG. Além disso, um ombro inseparável no pico que funde na mesma faixa de temperatura do pico principal está associado à natureza complexa do TAG (TAN; CHE MAN, 2000).

Tabela 2.6 Parâmetros de DSC obtidos da transição de fase cristalização e fusão dos óleos de sapucaia

Resfriamento (Cristalização)												
Amostra	Pico 1					Pico 2					Resumo da fase	
	T_i	P_{C1}	T_f	R	ΔH_{C1} (J g ⁻¹)	T_i	P_{C2}	T_f	R	ΔH_{C2} (J g ⁻¹)	ΔH_T (J g ⁻¹)	R_{TC}
LP1	-8,04	-11,56	-23,20	15,16	-19,16	-59,80	-66,30	-73,93	14,13	-3,01	-22,17	-5,22 a -76,01
LP2	-8,43	-12,51	-31,47	23,04	-20,00	-65,15	-58,07	-73,92	8,77	-12,56	-32,56	-6,17 a -74,92
Aquecimento (Fusão)												
	Pico único				Resumo da fase							
	T_i	P_F	T_f	R	ΔH_{TF} (J g ⁻¹)			R_{TF}				
LP1	-25,77	-7,99	-1,68	24,09	59,34			-31,46 a 8,28				
LP2	-29,87	-10,13	-1,09	28,78	64,76			-31,34 a 6,29				

ΔH_{C1} e ΔH_{C2} = entalpia de cristalização para o pico 1 e pico 2, respectivamente; ΔH_{TC} = entalpia total de cristalização; ΔH_{TF} = entalpia total de fusão; P_{C1} = temperatura do primeiro pico da fase de cristalização; P_{C2} = temperatura do segundo pico da fase de cristalização; P_F = temperatura do pico principal da fase de fusão; T_i e T_f = temperatura inicial e final da transição de fase, respectivamente; R = amplitude da transição de fase (diferença na temperatura entre T_i e T_f); R_{TC} = amplitude total da fase de cristalização; R_{TF} = amplitude total da fase de fusão. Todas as temperaturas e amplitudes em °C. FONTE: O autor (2018).

2.3.6.3. Curva de aquecimento

Durante a fusão, o ODS encontrou-se completamente derretido a 8,28 °C e 6,29 °C (LP1 e LP2, respectivamente) quando aquecido a 5 °C/min (**Figura 2.4b**). Além disso, a LP1 mostrou um único ombro principal antes do pico máximo de fusão (P_F) a -18,42 °C, enquanto LP2 apresentou um ombro maior antes do P_F (-21,47 °C) e mais um adicional após o pico principal a -6,61 °C. A curva de fusão do ODS começou em -25,77 °C (LP1) e -29,87 °C (LP2) e o maior pico foi observado na região de temperatura de -7,99 °C a -10,13 °C; os eventos terminaram em torno de -1,09 °C a -1,68 °C, revelando que esta região compreende o ponto de fusão do ODS. O processo compreendeu uma faixa de fusão de 24-28 °C, com uma entalpia de fusão de 59,34 J/g (LP1) e 64,76 J/g (LP2) (**Tabela 2.6**).

O baixo ponto de fusão de um óleo está altamente relacionado com o grau de insaturação do AG, devido aos pontos de fusão mais baixos dos TAG formados por AGI. Isso também reforça que são necessárias mais pesquisas sobre a composição de TAGs do ODS para avaliar o papel desses componentes em seu comportamento térmico, uma vez que os TAGs com os mesmos ácidos graxos podem mostrar propriedades diferentes de acordo com a posição de cada AG na estrutura do glicerol (isomerismo).

No aquecimento do óleo, regiões endotérmicas múltiplas estão correlacionadas com eventos separados de fusão do TAG. Além disso, a composição e o polimorfismo dos óleos podem causar alguns efeitos sobrepostos, resultando em diferentes formas dos picos endotérmicos (SAMYN *et al.*, 2012). As transições de fase são principalmente determinadas pelo grau de heterogeneidade na composição dos óleos, e incluem a quebra e a formação de ligações de hidrogênio, que é o resultado de rearranjos estruturais nas cadeias de glicerídeos (DEL RÍO *et al.*, 2016).

As principais mudanças no ponto de fusão do óleo estão relacionadas à formação de novas espécies moleculares de TAG, como TAG dissaturado e trissaturado (GUEDES *et al.*, 2017). Esses resultados sobre o comportamento de fusão do ODS são importantes principalmente na ocasião em que é necessário mudar algumas propriedades físico-químicas para alcançar funcionalidades específicas para certas aplicações, como o caso de gorduras sólidas, por exemplo, na produção margarina através da utilização de óleo líquido.

2.3.6.4. Conteúdo de gordura sólida

O teor de gordura sólida (do inglês *solid fat content*, SFC) é considerado uma propriedade importante dos lipídios porque expressa suas propriedades sensoriais, tecnológicas e de proteção/liberação, bem como suas propriedades físicas, como consistência, capacidade de espalhamento e estabilidade (AUGUSTO *et al.*, 2012).

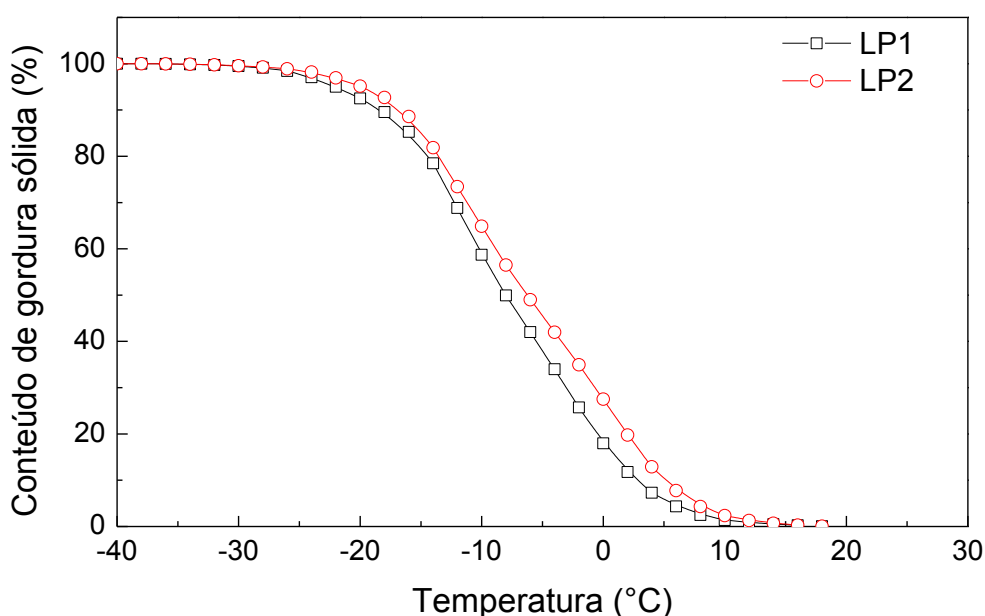


Figura 2.5 Conteúdo de gordura sólida dos óleos de sapucaia determinados por DSC na faixa de -40 a 20 °C. FONTE: O autor (2018).

De acordo com os termogramas de fusão (**Figura 2.4b**), o ODS não apresentou alterações no SFC em temperaturas menores que -40 °C, então a análise dos dados foi realizada na faixa de -40 °C a 20 °C (região do pico de fusão). O SFC do óleo de sapucaia exibiu uma diminuição inferior a 2,5% entre -40 °C e -30 °C para os dois óleos, e começou a cair rapidamente em torno de -20 °C até 0 °C e, finalmente, desacelerou de 6 °C para 10 °C até que não restou gordura sólida restante (**Figura 2.5**). O conteúdo de gordura sólida está diretamente associado ao perfil de AG. Os óleos com maior teor de AGI são mais fáceis de fundir do que os óleos com maior conteúdo de AGS (AUGUSTO *et al.*, 2012; GAO; YANG; BIRCH, 2016), o que significa que, quando congeladas, as amostras de ODS são facilmente fundidas após aplicação de gradiente de temperatura.

2.3.7. Propriedades reológicas

2.3.7.1. Reologia em estado estacionário

Os resultados para o comportamento reológico dos ODS mostraram que a viscosidade aparente (η) tende a diminuir com o aumento da temperatura (T) e também com o aumento da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$), indicando que os óleos de sapucaia são fluidos pseudoplásticos (**Tabela 2.7**, **Figura 2.6**).

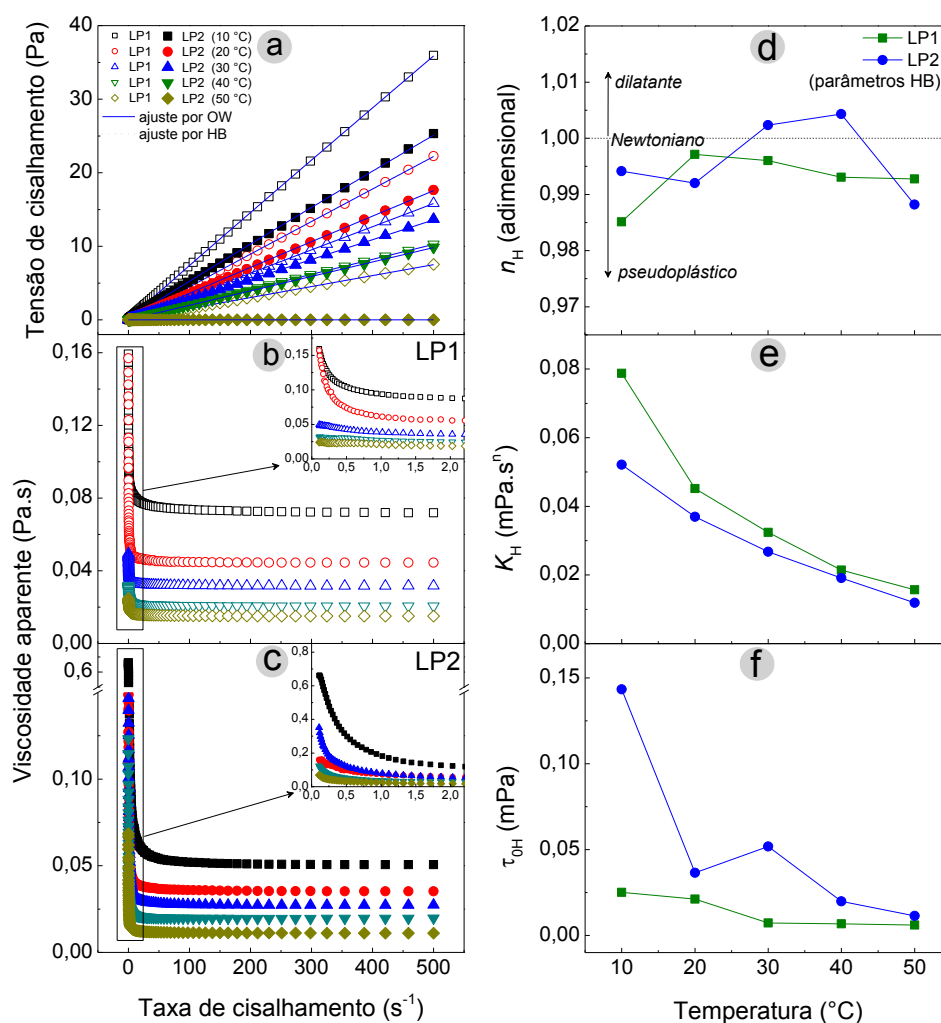


Figura 2.6 Curvas de fluxo para os óleos de sapucaia ajustados pelos modelos de Ostwald-de Waele (linha sólida) e Herschel-Bulkley (pontilhado) (a); curvas de viscosidade para LP1 (b, símbolos vazios) e LP2 (c, símbolos cheios), registrados a 10, 20, 30, 40 e 50 °C; evolução dos parâmetros de Herschel-Bulkley de acordo com a temperatura para índice de comportamento de fluxo (d), coeficiente de consistência (e) e tensão inicial (f). FONTE: O autor (2018).

Tabela 2.7 Parâmetros reológicos ajustados pelos modelos de Ostwald-de Waele e Herschel-Bulkley para os óleos de sapucaia avaliados em diferentes temperaturas.

Amostra	Temperatura (°C)	Ostwald-de Waele				
		K (Pa.s ⁿ)	n	R^2	χ^2	
LP1	10	0,0801 ± 0,0041	0,9825 ± 0,0091	0,99999	0,00061	
	20	0,0462 ± 0,0053	0,9936 ± 0,0030	0,99999	0,00044	
	30	0,0328 ± 0,0001	0,9943 ± 0,0019	0,99999	0,00006	
	40	0,0218 ± 0,0003	0,9906 ± 0,0035	0,99999	0,00005	
	50	0,0160 ± 0,0001	0,9897 ± 0,0030	0,99999	0,00004	
LP2	10	0,0598 ± 0,0059	0,9723 ± 0,0141	0,99961	0,01236	
	20	0,0388 ± 0,0030	0,9841 ± 0,0105	0,99995	0,00087	
	30	0,0293 ± 0,0008	0,9877 ± 0,0009	0,99983	0,00155	
	40	0,0201 ± 0,0007	0,9966 ± 0,0001	0,99995	0,00026	
	50	0,0125 ± 0,0007	0,9804 ± 0,0053	0,99995	0,00008	
Herschel-Bulkley						
		τ_{0H} (Pa) ^{1/2}	K_H (Pa.s) ^{1/2}	n_H	R^2	χ^2
LP1	10	0,0251 ± 0,0008	0,0788 ± 0,0041	0,9851 ± 0,0092	0,99999	0,00028
	20	0,0212 ± 0,0162	0,0452 ± 0,0045	0,9971 ± 0,0005	0,99999	0,00013
	30	0,0072 ± 0,0009	0,0324 ± 0,0002	0,9960 ± 0,0017	0,99999	0,00003
	40	0,0068 ± 0,0011	0,0214 ± 0,0002	0,9931 ± 0,0031	0,99999	0,00003
	50	0,0060 ± 0,0009	0,0157 ± 0,0001	0,9928 ± 0,0025	0,99999	0,00002
LP2	10	0,1434 ± 0,0195	0,0521 ± 0,0043	0,9941 ± 0,0115	0,99996	0,00132
	20	0,0365 ± 0,0073	0,0370 ± 0,0033	0,9920 ± 0,0123	0,99999	0,00015
	30	0,0518 ± 0,0036	0,0268 ± 0,0006	1,0024 ± 0,0002	0,99999	0,00011
	40	0,0198 ± 0,0026	0,0191 ± 0,0006	1,0043 ± 0,0008	0,99999	0,00005
	50	0,0114 ± 0,0006	0,0119 ± 0,0007	0,9882 ± 0,0059	0,99999	0,00001

K , K_H = coeficientes de consistência; n , n_H = índices de comportamento de fluxo (adimensional); τ_{0H} = tensão inicial de Herschel-Bulkley; R^2 = coeficiente de determinação; χ^2 = qui-quadrado. FONTE: O autor (2018).

É comum que os óleos exibam uma dependência da temperatura. Por outro lado, no caso do óleo de sapucaia, observa-se uma não dependência da η em quando exposto a taxas mais elevadas. A 50 °C, a η é quase constante em todo o intervalo testado, com um impacto mínimo da taxa de cisalhamento. Além disso, 2,0 s⁻¹ foi o valor máximo de $\dot{\gamma}$ que induziu grandes mudanças na η (ver detalhe na **Figura 2.6b, c**). Os modelos Ostwald-de-Waele (OW) e Herschel-Bulkley (HB) (**Figura 2.6a, Tabela 2.7**) mostraram um bom nível de ajuste para os dados experimentais ($R^2 > 0,999$; $\chi^2 < 0,012$). Em concordância com o comportamento da η , à medida que a T aumentou, os valores de K e K_H diminuíram (**Figura 2.6e, Tabela 2.7**).

Uma observação semelhante para muitos óleos comestíveis, como os de coco, girassol, canola, milho (WAN NIK *et al.*, 2005) e de oliva (SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2015) foram relatados. De acordo com Gila *et al.* (2015), uma maior quantidade de AGI, como C18:1 e C18:2, podem possuir uma grande contribuição para o comportamento do fluxo de óleos. O modelo OW mostrou que os óleos são do tipo não-Newtonianos ($n < 1$) na faixa de T avaliada. No entanto, o modelo de HB revelou que a amostra LP2 se comportou como um fluido dilatante ($n_H > 1$) a 30 °C e 40 °C (**Figura 2.6f**). Destacando-se do OW, o modelo HB é capaz de determinar a tensão de escoamento inicial (τ_{0H}) em que um material começa a deformar plasticamente sem retornar à sua forma original quando o estresse aplicado é removido. Nem todos os fluidos apresentam essa característica. Os ODS apresentaram τ_{0H} em valores baixos, que também tendem a diminuir com um aumento em T .

A **Figura 2.7** mostra as relações não-linear e linear da η *versus* T e $\ln \eta$ *versus* $1/T$, respectivamente, obtidas a partir da equação de Arrhenius (**Eq. 3**) e ajustada aos dados experimentais (**Figura 2.8**), ilustrando a dependência da η frente à T . Isso pode ser devido à energia obtida para superar a resistência ao fluxo, o que pode, por sua vez, ser devido às forças de atração entre as moléculas de óleo. Este comportamento é comum para óleos vegetais, tais como óleo de coco, óleo bruto de semente de palma, azeite, óleo de sésamo, óleo de soja e óleo de girassol (GIAP, 2010).

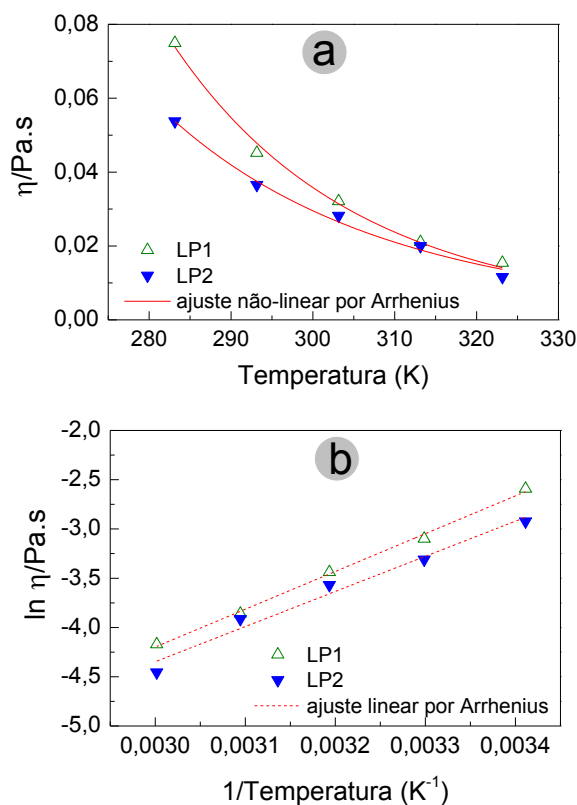


Figura 2.7 Dependência das viscosidades na temperatura e o ajuste dos dados experimentais ao modelo usando a equação não-linear (a) e linearizada de Arrhenius (b) para os óleos de sapucaia em diferentes temperaturas. FONTE: O autor (2018).

Valores de E_a maiores indicam a maior sensibilidade da viscosidade aparente da amostra quando a temperatura é modificada. Além disso, quanto maior a E_a , maior a estabilidade à oxidação. A E_a para LP1 foi ligeiramente superior ($31,89 \text{ kJ mol}^{-1}$) à LP2 ($29,66 \text{ kJ mol}^{-1}$); portanto, LP1 produziu maior variação na η em resposta às mudanças na T .

Tabela 2.8 Comparação entre a energia de ativação (E_a) e a viscosidade aparente (η) na taxa de cisalhamento de $53,4 \text{ s}^{-1}$ dos óleos de sapucaia analisados em diferentes temperaturas

Amostra	E_a (kJ mol ⁻¹)	R^2	Viscosidade aparente (Pa.s)				
			10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C
LP1	$31,89 \pm 0,55^a$	0,989	$0,0750 \pm 0,0011^a$	$0,0452 \pm 0,0048^a$	$0,0322 \pm 0,0004^a$	$0,0211 \pm 0,0000^a$	$0,0154 \pm 0,0000^a$
LP2	$29,66 \pm 0,39^b$	0,978	$0,0538 \pm 0,0029^b$	$0,0365 \pm 0,0013^b$	$0,0282 \pm 0,0006^b$	$0,0200 \pm 0,0007^b$	$0,0116 \pm 0,0004^b$

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). FONTE: O autor (2018).

Nos óleos vegetais, a energia de ativação (E_a) está relacionada ao conteúdo de AGPI. Usualmente, a E_a para oxidação poderia ser reduzida por conta de um elevado grau de poli-insaturados (teores de ácido linoleico e linolênico), enquanto um alto teor de ácido oleico na cadeia de AG aumentaria essa energia (TENGGU-ROZAINA; BIRCH, 2016).

2.3.7.2. Reologia oscilatória

A viscoelasticidade fornece informações valiosas sobre o comportamento dos óleos em relação à sua composição e outras propriedades físicas. O módulo de armazenamento G' está correlacionado com a elasticidade (semisólido), enquanto que o módulo de perda G'' está associado à viscosidade (semilíquido). O módulo complexo $|G^*|$ revela a estrutura geral do sistema, enquanto o ângulo de fase δ sugere se um sistema de gordura é mais sólido ou mais líquido (XU *et al.*, 2016). Esses parâmetros são representados na **Figura 2.8**.

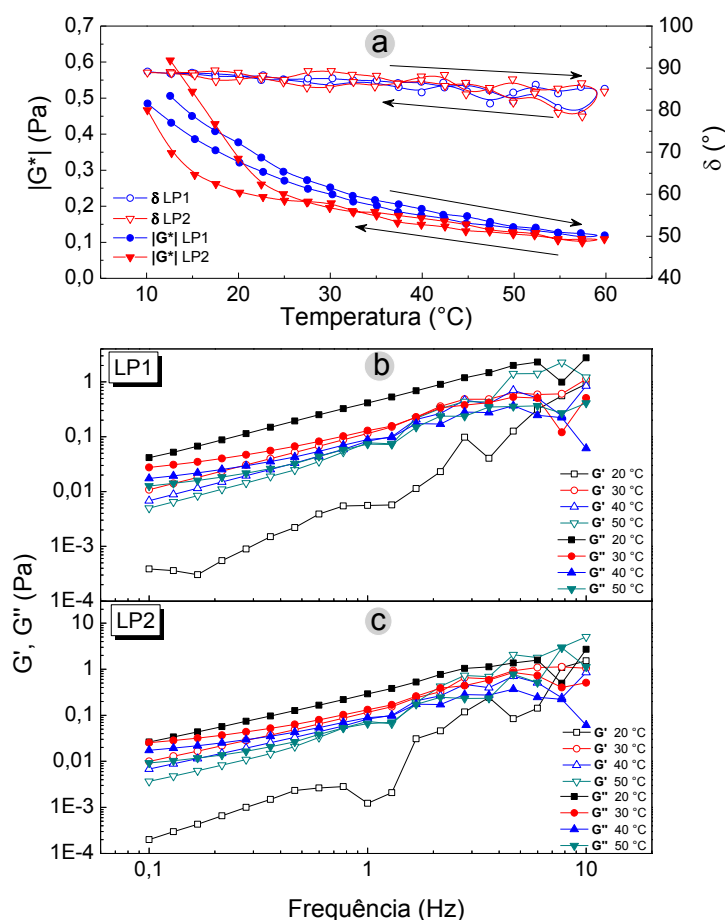


Figura 2.8 Rampa de temperatura durante aquecimento (10-60 °C) e resfriamento (60-10 °C) (a), e varredura de frequência (b,c) do óleo de sapucaia. FONTE: O autor (2018).

No ODS, houve uma diminuição gradual no $|G^*|$ durante o aquecimento, seguido pelo efeito oposto durante o resfriamento (**Figura 2.8a**). Isto revelou potencialmente a destruição de uma rede de cristal primário (efeito da fusão) que foi cristalizada novamente quando o óleo foi arrefecido, uma vez que $|G^*|$ retornou aos seus valores iniciais, fortalecendo assim a possível rede de cristal que estava prestes a formar-se novamente próximo de 10 °C (XU *et al.*, 2016). Em todas as amostras, os componentes elásticos (G') e viscosos (G'') aumentaram com a frequência aplicada na faixa de 0,1 a 10 Hz, sendo G'' sempre maior do que G' (**Figura 2.8b, c**). Portanto, as amostras de ODS são todos fluidos viscoelásticos com componente viscoso predominante. Comportamento semelhante foi relatado para os óleos de bagaço de azeitona (SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ *et al.*, 2015).

2.3.8. Análise de ATR-FTIR

Na **Tabela 2.9**, cada pico corresponde a um grupo funcional responsável pela absorção de infravermelho (IR); as intensidades de cada pico estão associadas à concentração dos grupos funcionais presentes nos dois óleos. A olho nu, toda a gama de espectros parece muito semelhante para cada ODS (**Figura 2.9**).

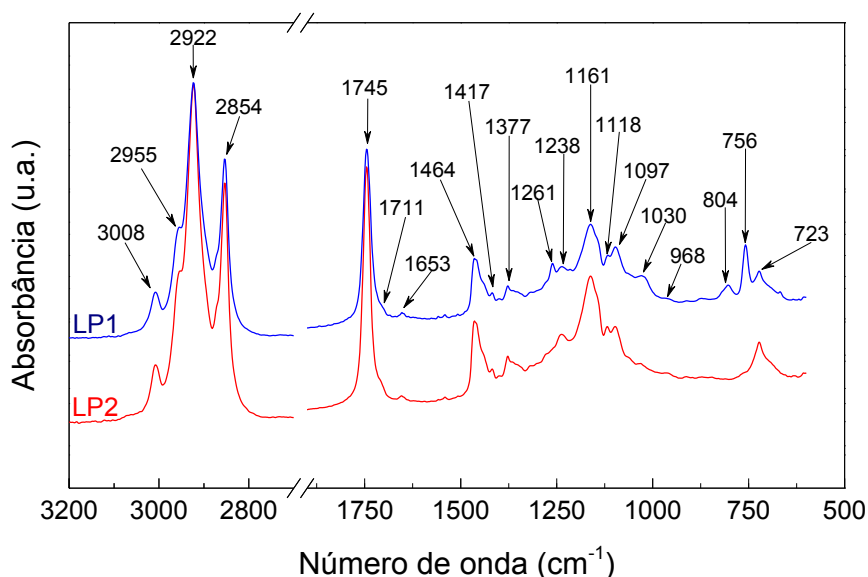


Figura 2.9 Espectro ATR-FTIR dos óleos de sapucaia na região do IR médio de 3200-650 cm^{-1} . FONTE: O autor (2018).

Não há diferenças consideráveis entre suas características espectrais além de pequenas mudanças nas absorbâncias em algumas faixas, bem como algumas

modificações na posição exata das bandas. Em geral, os espectros exibiram os picos característicos dos grupos funcionais comuns às amostras de ésteres (DEL RÍO *et al.*, 2016; ROHMAN; CHE MAN, 2011). Algumas diferenças foram observadas apenas nas bandas de absorção em torno de 2955, 1261, 804 e 756 cm^{-1} (**Tabela 2.9**).

Os picos na região de 3008 cm^{-1} , atribuídos à vibração *cis* $\text{C}=\text{CH}$, e a 1653 cm^{-1} , causados pela vibração de *cis* $\text{C}=\text{C}$, estavam presentes em ambas as amostras. Este pico (a 1653 cm^{-1}) também está correlacionado com a presença de AGI (DEL RÍO *et al.*, 2016; GUILLÉN; CABO, 1997; ROHMAN; CHE MAN, 2011). As bandas fortes em torno de 2922 e 2854 cm^{-1} podem ser atribuídas às vibrações de alongamento $\text{C}-\text{H}$ assimétricas e simétricas de grupos CH_2 , que também estão presentes em óleos de macaúba (*Acrocomia aculeata*) (DEL RÍO *et al.*, 2016).

Tabela 2.9 Bandas de absorção no espectro ATR-FTIR dos óleos de sapucaia

Número de onda (cm^{-1})		Grupo funcional*
LP1	LP2	
3008	3008	$=\text{C}-\text{H}$ (<i>cis</i> -)
2955	2953	$-\text{C}-\text{H}$ (CH_3)
2922	2922	$-\text{C}-\text{H}$ (CH_2)
2854	2854	$-\text{C}-\text{H}$ (CH_2)
1745	1745	$-\text{C}=\text{O}$ (éster)
1711	1711	$-\text{C}=\text{O}$ (ácido)
1653	1653	$-\text{C}=\text{C}-$ (<i>cis</i> -)
1464	1464	$-\text{C}-\text{H}$ (CH_2 , CH_3)
1417	1417	$=\text{C}-\text{H}$ (<i>cis</i> -)
1377	1377	$-\text{C}-\text{H}$ (CH_3)
1261	—	$-\text{C}-\text{O}$
1238	1238	$-\text{C}-\text{O}$, $-\text{CH}_2-$
1161	1161	$-\text{C}-\text{O}$, $-\text{CH}_2-$
1118	1118	$-\text{C}-\text{O}$
1097	1097	$-\text{C}-\text{O}$
1030	1030	$-\text{C}-\text{O}$
968	968	$-\text{HC}=\text{CH}-$ (<i>trans</i> -)
914	914	$-\text{HC}=\text{CH}-$ (<i>cis</i> -)
804	—	$-\text{C}-\text{H}$
756	—	$-\text{C}-\text{H}$
723	723	$-(\text{CH}_2)_n-$, $-\text{HC}=\text{CH}-$ (<i>cis</i> -)

*FONTE: Guillen & Cabo (1997).

O triglicerídeo, que é um componente importante dos óleos e gorduras comestíveis, foi dominante nos espectros. Os picos principais que representam grupos funcionais de triglicerídeos podem ser observados em torno de 2922 cm^{-1} ,

2854 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} , 1464 cm^{-1} , 1161 cm^{-1} e 723 cm^{-1} (GUILLÉN; CABO, 1997). Um pequeno ombro a 1711 cm^{-1} também foi detectado e atribuído a AG livres. A banda a 1464 cm^{-1} é a banda de tesoura da vibração de torção do grupo metileno. Uma faixa a 1417 cm^{-1} foi atribuída a vibrações balanço de ligações CH de olefinas *cis*-dissubstituídas (GUILLÉN; CABO, 1997). Do mesmo modo, uma banda a 1377 cm^{-1} pode ser devido à vibração de estiramento simétrico de grupos metila. A banda em torno de 1161 cm^{-1} poderia ser atribuída ao alongamento das ligações C–O de ésteres alifáticos ou vibrações de estiramento CH_2 (ZHANG *et al.*, 2015). Além disso, o pico a 1161 cm^{-1} e seu ombro a 1238 cm^{-1} foram considerados como impressões digitais de alongamento C–O em ácidos graxos de cadeia longa (ZHANG *et al.*, 2013). Finalmente, a banda a 722 cm^{-1} foi atribuída ao balanço $(\text{CH}_2)_n$ (GUILLÉN; CABO, 1997).

Essas diferenças entre os espectros FTIR de LP1 e LP2 confirmam que o método de extração causou algumas alterações ao perfil químico dos óleos. Esta descoberta também sugere que a composição do óleo pode afetar a posição exata das bandas e também influenciar as mudanças no espectro de IR.

2.4. CONCLUSÃO

Foram estudadas as propriedades térmicas e reológicas, a estabilidade oxidativa, a atividade antioxidante e a análise da espectroscopia FTIR de óleos de sapucaia (ODS). As análises indicaram que o método de extração afeta a composição de ácidos graxos dos óleos. O ODS apresenta alta relação de AGI/AGS, independentemente do processo de extração, mas a relação de ácidos graxos linoleico/oleico é altamente afetada pelo método de extração. Além disso, os extratos metanólicos de óleo apresentaram conteúdo considerável de compostos fenólicos totais e propriedades antioxidantes. O tipo de extração do óleo também teve um menor impacto no comportamento reológico, que afeta claramente a plasticidade dos óleos. Os modelos de Ostwald-de-Waele e Herschel-Bulkley indicaram que os ODS possuem comportamento pseudoplástico. O efeito da temperatura sobre as mudanças na viscosidade foi considerado mais significativo do que o efeito da taxa de cisalhamento. A análise térmica indicou que os óleos de sapucaia foram termicamente estáveis até 300 °C com perda de massa de ~ 5%. Os parâmetros DSC mostraram que os perfis de fusão dos óleos de sapucaia são

semelhantes independentemente do método de extração. O índice de estabilidade oxidativa dos óleos de *L. pisonis* foi estabelecido por Rancimat. Os ODS apresentaram padrões similares de FTIR, com bandas características para óleos vegetais. Esses resultados reforçam a ideia de que os óleos de sapucaia são adequados para consumo humano. Além disso, esses dados abrem novas possibilidades para a utilização industrial do ODS para indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas. Pesquisas adicionais são necessárias para investigar outros compostos químicos desses óleos, como tocoferóis e suas atividades biológicas potenciais.

CAPÍTULO 3

Avaliação da extração do óleo de sapucaia utilizando propano subcrítico e CO₂ supercrítico

O conteúdo desse capítulo foi publicado integralmente na *Journal of Supercritical Fluids* e sua formatação segue as normas do referido periódico (Anexo II)

Avaliação da extração do óleo de sapucaia utilizando propano subcrítico e CO₂ supercrítico

Resumo

A extração do óleo de sapucaia (*Lecythis pisonis*) (ODS) usando como solventes o propano subcrítico (Psub) e o CO₂ supercrítico (com etanol como co-solvente, scCO₂) foi investigada e comparada com a extração convencional (Soxhlet). A extração com scCO₂ foi realizada a 333 K e 20 MPa, enquanto as extrações com Psub foram realizadas em diferentes condições a fim de avaliar os efeitos da temperatura (293-333 K) e pressão (2-10 MPa) sobre o rendimento do óleo e na composição química dos produtos. Os resultados mostraram que o Psub permitiu uma extração rápida com maior rendimento (46,22%) obtido em 333 K e 10 MPa, representando 93% de eficiência em relação ao Soxhlet. Apenas a temperatura teve efeito significativo ($p < 0,05$) no rendimento da extração. O Psub possibilitou a extração dos óleos com maiores teores de ácidos graxos poli-insaturados (~ 36%). A estabilidade à oxidação variou entre 6,53 a 11,17 h. Os principais triacilgliceróis presentes no ODS são OOO, SOO, POO, PLO e POS.

3.1 INTRODUÇÃO

Uma maneira efetiva de valorizar as espécies arbóreas e prevenir sua extinção consiste principalmente em algumas técnicas de reflorestamento ou na redução do desmatamento. Outra solução é encontrar o uso adequado para seus principais produtos (frutas, folhas e sementes), visando a manutenção de um ciclo que assegure proteção e sobrevivência para as espécies.

Algumas árvores de ocorrência no Brasil que não foram adequadamente estudadas e que não estão disponíveis no mercado não têm aplicação na indústria, sendo negligenciadas devido à falta de pesquisas necessárias para estimular seu uso. Nesse contexto, a *Lecythis pisonis*, uma árvore que está presente na maioria das regiões do Brasil (VALLILO *et al.*, 1999), é subutilizada em termos de uso do seu principal produto, as chamadas castanhas de "sapucaia". Esta castanha comestível apresenta um alto teor de lipídios (51-64%), predominantemente ácido linoleico (COSTA; JORGE, 2012; VALLILO *et al.*, 1999) em um óleo de coloração amarela, apresentando um sabor característico e também conhecido por sua similaridade com a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*). Embora alguns estudos tenham sido conduzidos com a castanha de sapucaia, a aplicação industrial e utilização do óleo ainda são pouco valorizadas, devido à falta de maiores informações, inclusive sobre outros processos de extração que causem mínimas alterações em suas características.

O uso de processos de extração convencionais que envolvem solventes orgânicos para extração tem sido desestimulado devido à presença de resíduos de solventes e dos danos a alguns componentes que são importantes no produto final, principalmente devido ao uso de altas temperaturas (CZAIKOSKI *et al.*, 2015a). Por outro lado, novas técnicas que são tão eficazes quanto as tradicionais e que resultam em produtos de alta qualidade com nenhum solvente restante são amplamente estimuladas, como o uso de fluidos pressurizados sob condição sub- ou supercrítica (COELHO *et al.*, 2016; CORREA *et al.*, 2016; CZAIKOSKI *et al.*, 2015a, 2015b; PEREIRA *et al.*, 2017; TRENTINI *et al.*, 2017).

Uma técnica amplamente utilizada, que é uma chamada "tecnologia verde", é o uso de dióxido de carbono em condição supercrítica (scCO_2 ; $T = 304,25 \text{ K}$, $P = 7,39 \text{ MPa}$) (CZAIKOSKI *et al.*, 2015b). No entanto, o scCO_2 é menos eficaz na extração de porções lipídicas, devido à baixa solubilidade de triacilglicerídeos (NDIAYE *et al.*, 2006; TRENTINI *et al.*, 2017), e o uso de alta pressão ou co-

solventes (como o etanol) é necessário para melhorar os rendimentos de extração. Ao contrário, o propano comprimido ou subcrítico (condições críticas: $T = 369,82\text{ K}$, $P = 4,25\text{ MPa}$) foi avaliado e utilizado como um solvente no qual os triglicerídeos e os ácidos graxos apresentam alta solubilidade (COELHO *et al.*, 2016; NDIAYE *et al.*, 2006), proporcionando maiores rendimentos de extração, tendo como principal benefício o uso de menores pressões e temperaturas que propiciam um produto de alta qualidade com um mínimo de danos, sem degradação de compostos bioativos, tempos de extração mais curtos e completamente isentos de resíduos (CORREA *et al.*, 2016; CORSO *et al.*, 2010; DA SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016; PEREIRA *et al.*, 2017; TRENTINI *et al.*, 2017), apresentando assim diversas vantagens frente ao scCO_2 (CORREA *et al.*, 2016).

O propano em condições comprimidas foi utilizado com sucesso na extração de óleos de uma ampla gama de fontes vegetais, como a polpa de macaúba (TRENTINI *et al.*, 2017), sementes de maracujá (PEREIRA *et al.*, 2017), kiwi (COELHO *et al.*, 2016), gergelim (CORSO *et al.*, 2010), canola (PEDERSSETTI *et al.*, 2011), pimenta vermelha (ILLÉS *et al.*, 1999), crambe (SANTOS *et al.*, 2015), linhaça (ZANQUI *et al.*, 2015), *Moringa oleifera* (SILVA *et al.*, 2016a), sachá inchi (ZANQUI *et al.*, 2016), pinhão (SILVA *et al.*, 2016b), uva (FREITAS *et al.*, 2008), girassol (NIMET *et al.*, 2011), palma (JESUS *et al.*, 2013), pequi (PESSOA *et al.*, 2015), e em folhas de perilla (SILVA *et al.*, 2015).

Publicações na literatura relatam extração de óleo de castanhas de *L. pisonis* por extração a frio (COSTA; JORGE, 2012), e também usando solvente orgânico por Soxhlet (CARVALHO *et al.*, 2012c; TEIXEIRA *et al.*, 2017; VALLILO *et al.*, 1999) e os métodos de Bligh & Dyer (TEIXEIRA *et al.*, 2017). No entanto, não há dados sobre a extração de óleo de sapucaia usando processos de CO_2 supercrítico ou propano comprimido.

Assim, o objetivo deste estudo foi obter óleo de frutos de sapucaia usando as técnicas de propano subcrítico, e dióxido de carbono supercrítico (com etanol como co-solvente), e investigar os efeitos da temperatura e pressão nas extrações de óleo. O método de Soxhlet com n-hexano foi aplicado para obter um óleo que foi utilizado para fins de comparação. Além disso, as amostras de óleo obtidas (de diferentes processos e técnicas) foram analisadas quanto à sua composição de ácidos graxos, estabilidade oxidativa, comportamento de cristalização e fusão e composição de triacilgliceróis.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Amostras de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.)

As amostras de sapucaia *Lecythis pisonis* Cambess. foram coletadas em uma pequena área localizada na zona rural de Araguañã-MA, Brasil (Latitude: 3°02'06.9"S; Longitude: 45°38'31.3"W). As castanhas foram secas em estufa de circulação de ar a 313,15 K por 24 h para remover a umidade. As cascas foram então removidas com o auxílio de um quebra-nozes de aço inoxidável. As sapucaias descascadas foram embaladas em sacos plástico, esmagadas com um pequeno martelo, e então foram passadas através de um sistema de peneira Tyler composto de peneiras de números 8, 12 e 24. Os pedaços de sapucaia que passaram através da peneira #8 e foram mantidos na peneira #12 foram usados nas extrações, como mostrado no esquema da **Figura 3.1**.

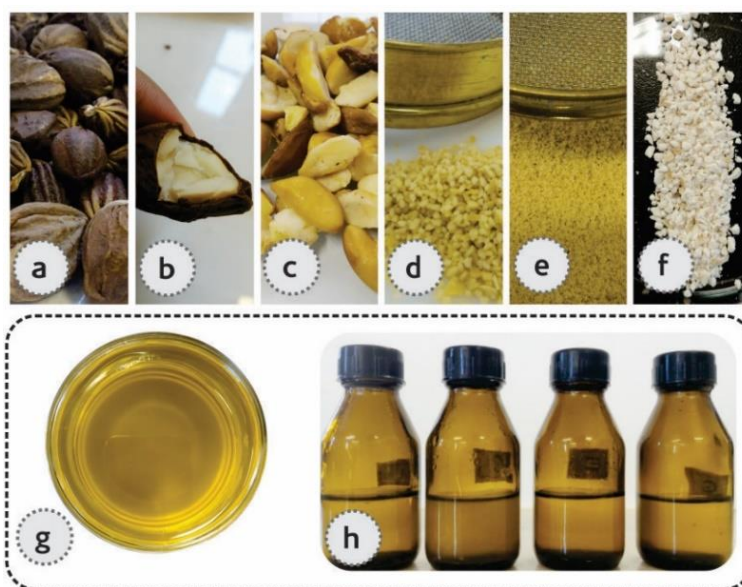


Figura 3.1 Amostras de castanhas de sapucaia e os óleos resultantes da extração. Sapucaia inteira (a); detalhe de uma sapucaia quebrada (b); sapucaias descascadas (c); sapucaias trituradas separadas pela peneira de mesh #8 (d) e #12 (e); resíduo da castanha após extração do óleo (f); aparência do óleo (g); amostras de óleo armazenadas em frascos âmbar de vidro (h). FONTE: O autor (2018).

3.2.2 Extração do óleo da sapucaia

As amostras de óleo utilizadas neste estudo foram obtidas por três métodos diferentes: extração subcrítica com propano (LPP1 a LPP5), extração supercrítica com CO₂, usando etanol (1:1, m/m) como co-solvente (LPC), e Soxhlet usando n-

Resumidamente, a configuração experimental consiste em extrator batelada encamisado ($0,08 \text{ m}^3$ volume interno, $L = 0,16 \text{ m}$ e $\Phi = 2,52 \times 10^{-2} \text{ m}$) acoplado a um banho termostático, uma válvula micrométrica do tipo agulha para controlar o fluxo na saída do extrator, uma bomba do tipo seringa de alta pressão (ISCO, modelo 500D, Lincoln, NE 68504, EUA), uma bomba de deslocamento positivo, e sensores e transdutores de pressão e temperatura. O solvente foi bombeado a uma taxa de fluxo constante de $2,0 \pm 0,2 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ para ambos os fluidos utilizados. O propano e o CO_2 utilizados neste trabalho foram adquiridos da White Martins S.A. (99,5% de pureza em fase líquida). A condição de extração com CO_2 supercrítico foi estabelecida de acordo com os testes preliminares realizados usando etanol 1:1 (m/m) como co-solvente, imergindo diretamente a amostra no álcool imediatamente antes do confinamento no extrator.

Para a extração subcrítica utilizando propano, um planejamento fatorial 2^2 com ponto central (**Tabela 3.1**) foi aplicado com o objetivo de avaliar os efeitos da pressão e da temperatura no rendimento da extração. O óleo foi recolhido num frasco de vidro âmbar e sua massa foi determinada em intervalos de tempo de 5 min de extração. Os rendimentos foram calculados como a proporção da massa de óleo extraída pela massa inicial da sapucaia. A análise dos dados experimentais, com nível de confiança de 95%, foi realizada utilizando o programa de *software* Statistica 10.0 (Statsoft™, Inc.).

3.2.3 Composição em ácidos graxos

A composição de ácidos graxos dos diferentes óleos de sapucaia foi determinada utilizando cromatografia gasosa. As amostras de óleo foram diretamente metiladas usando metóxido de sódio, conforme descrito por Christie (1982) e depois foi injetada uma alíquota de $1 \mu\text{L}$ em uma coluna capilar BPX70 ($60 \text{ m} \times 0,22 \text{ mm}$, $0,25 \mu\text{m}$, SGE Inc., Austin, TX, EUA). Um cromatógrafo gasoso Agilent da série 6890 (Agilent Technologies, Inc., Wilmington, DE, EUA) com auto-amostrador da série 7683 foi usado. A temperatura do forno foi programada para aumentar de 110 a $230 \text{ }^\circ\text{C}$ a uma taxa de $4 \text{ }^\circ\text{C/min}$ e mantida a $230 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 18 min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 250 e $255 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste a uma velocidade média de 25 cm/s . A composição de ácidos graxos foi expressa como a porcentagem da área de pico total de todos os ácidos graxos na amostra de óleo.

3.2.4 Composição em triacilgliceróis

A composição de triacilglicerol (TAG) dos óleos de sapucaia foi avaliada usando um sistema de cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Cerca de 30 mg de amostra de óleo foram colocados em um *vial* de HPLC de 2 mL. A amostra foi dissolvida adicionando 600 μ L de clorofórmio e 1 mL de solução 60:40 (v/v) de acetona:acetonitrila de grau HPLC. A composição de TAG do óleo de sapucaia foi obtida através da análise cromatográfica com um HPLC modelo 2690 Waters Alliance com um detector de índice de refração Waters modelo 2410 (Waters, Milford, MA, EUA).

Uma coluna Waters Xbridge C18 (4,6 mm de diâmetro interno \times 250 mm de comprimento) com tamanho de partícula de 5 μ m foi utilizada para realizar a separação cromatográfica dos compostos no óleo de sapucaia. As configurações dos instrumentos foram as seguintes: fluxo isocrático (1 mL/min), temperatura de 40 °C para amostra, câmara da coluna e detector, e uma fase móvel contendo acetona/acetonitrila 6:4 (v/v) (misturado e desgaseificado antecipadamente). O *software* Millenium³² (K & K Testing, LLC, Decatur, GA, EUA) foi utilizado para analisar os dados. A composição TAG foi determinada usando a biblioteca interna para cada TAG e seu sinal correspondente.

3.2.5 Comportamento térmico

Um calorímetro diferencial de varredura (DSC) TA Mettler-Toledo (Mettler Toledo, Mississauga, ON, Canadá) foi utilizado para determinar o comportamento térmico. Foram pesadas amostras de óleo (10-12 mg) e seladas hermeticamente em uma panela de alumínio. Realizou-se um teste de resfriamento e aquecimento para cada amostra a fim de investigar o perfil de cristalização e fusão dos óleos de sapucaia. As amostras foram mantidas a 20 °C durante 5 min e aquecidas a 50 °C a 5 °C/min, depois mantidas durante 5 min, seguidas por resfriamento a -80 °C na taxa de -5 °C/min e mantidas a esta temperatura durante 5 min. Depois disso, as amostras foram aquecidas a partir de -80 a 50 °C na taxa de 5 °C/min. O termograma foi registrado e as temperaturas de pico e de início foram calculadas usando o *software* STARe (Mettler Toledo).

3.2.6 Índice de estabilidade oxidativa

O índice de estabilidade oxidativa (*Oxidative Stability Index*, OSI), também conhecido como Período de Indução (*Induction Period*, IP), foi obtido em um Rancimat modelo 679 (Metrohm, Herisau, Suíça), seguindo o Método Oficial AOCS Cd 12b-92 (AOCS, 1997). Em resumo, um fluxo de ar de 20 L/h foi borbulhado em $2,5 \pm 0,1$ g de amostra de óleo, que foi aquecido a 110 °C e, enquanto isso, os compostos voláteis formados após a decomposição de hidroperóxidos foram coletados em um frasco contendo água deionizada cuja condutividade foi continuamente medida pelo equipamento. O tempo necessário para alcançar o ponto de inflexão da condutividade (IP) foi registrado pela impressora do Rancimat como "horas".

3.2.7 Análise estatística

Ácidos graxos, triacilglicerol e análises térmicas foram realizados em duplicata. As médias e os desvios-padrão foram calculados e os resultados foram submetidos aos testes de Tukey e Duncan com uma probabilidade de 5%. Uma vez que a diferença entre os resultados foi mais precisamente descrita pelo Duncan, esse foi escolhido como teste estatístico principal. A análise de variância foi utilizada para avaliar o efeito de variáveis independentes nas respostas usando o modelo matemático expresso pela **Eq. 1** (R_i = resposta, β_0 = constante, e β_1 , β_2 e β_{12} = termos da regressão; T refere-se à temperatura, P refere-se à pressão). Toda a avaliação estatística foi feita usando o *software* Statistica 10.0 (StatSoft Inc.). Os gráficos foram feitos com a ajuda do Origin 8.6 (Originlab).

$$R_i = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 P + \beta_{12} TP \quad (1)$$

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Rendimento

O leito fixo para as extrações pressurizadas foi formado com $30,0 \pm 0,3$ g de sapucaia triturada com um teor de umidade de $4,07 \pm 0,90\%$. O tamanho de partícula (diâmetro médio das partículas) foi de aproximadamente $2,36 \times 10^{-3}$ m.

A **Tabela 3.1** mostra as condições experimentais aplicadas para a extração de óleos de sapucaia (ODS) usando propano comprimido, scCO₂ (com 1:1 m/m de proporção de etanol para matéria-prima) e n-hexano como solventes. Para o cálculo do rendimento de extração (y_e), a massa de extrato foi dividida pela massa de material seco alimentado, após o período de extração (60 min), para permitir uma comparação direta entre os resultados obtidos para as diferentes condições experimentais e os resultados são relatados como porcentagem de extração. Além disso, a **Tabela 3.1** apresenta uma comparação no y_e usando o valor de y_e obtido com n-hexano no Soxhlet como valor de referência, adotado como 100% em massa de extração, para calcular a eficiência de extração para propano e scCO₂.

O uso de n-hexano como solvente resultou em y_e de 49,50% de óleo. O y_e mais elevado (46,22%) com propano foi obtido em níveis mais altos de temperatura (333,15 K) e pressão (10 MPa) em uma extração de curto período (60 min). Deste modo, essa foi a condição experimental mais eficiente, proporcionando uma alta taxa inicial e o melhor y_e final. O rendimento mais baixo (33,32%) foi obtido utilizando scCO₂ + etanol (1:1 m/m) como solvente e utilizando uma pressão elevada (20 MPa); um resultado aproximadamente 28% menor em comparação com o maior rendimento obtido pelo uso de propano (LPP4).

A remoção de óleo da sapucaia foi quase concluída durante os primeiros 40 minutos do processo, e durante este período a taxa de extração aumentou quase linearmente ao longo do tempo devido à facilitação da transferência de massa pela extração na superfície das partículas (SPARKS *et al.*, 2006). O rendimento da extração obtido com o n-hexano (Soxhlet) foi maior do que os outros solventes, mas é de se destacar que, neste caso, o tempo de extração foi de 360 min, enquanto que para as extrações de fluido comprimido o tempo foi seis vezes mais rápido, verificando que um alto rendimento de óleo pode ser obtido em curtos períodos de extração. Além disso, o propano subcrítico atingiu 93% do rendimento obtido por n-hexano, enquanto o scCO₂ alcançou aproximadamente 67,32% (**Tabela 3.1**),

sugerindo que o primeiro seria a melhor opção para recuperação de óleo de sapucaia. O propano comprimido já provou ser um solvente melhor para a extração de óleos do que o CO₂ (CORSO *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2008; NDIAYE *et al.*, 2006).

Tabela 3.1 Condições experimentais e resultados da extração do óleo de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) com propano comprimido, CO₂ supercrítico + etanol como co-solvente, ou hexano

Corrida	Amostra	Método	Solvente	T (K)	P (MPa)	Tempo de extração (min)	Rendimento ^c (%)	Eficiência (%) ^d
1	LPP1	Fluido	Propano	293,15	2	60	42,49	85,85
2	LPP2	subcrítico	Propano	333,15	2	60	43,61	88,10
3	LPP3		Propano	293,15	10	60	42,35	85,56
4	LPP4		Propano	333,15	10	60	46,22	93,38
5	LPP5 ^a		Propano	313,15	6	60	43,47 ± 0,72 ^b	87,81
6	LPC	Fluido supercrítico	CO ₂ + EtOH	333,15	20	60	33,32 ± 0,50 ^b	67,32
7	LPS	Soxhlet	Hexano	Ponto de ebulição	-	360	49,50 ± 0,51 ^b	100

a: ponto central. b: média ± desvio-padrão (n=3). c: estimada a partir de 100 menos a massa de óleo removido. d: massa de extrato obtido pela massa de material seco alimentado × 100. FONTE: O autor (2018).

3.3.2 Análise estatística

A **Figura 3.3a** e **3.3b** representam a influência da temperatura na cinética de extração em duas pressões fixas diferentes, enquanto as **Figura 3.3c** e **3.3d** se referem ao efeito de pressão na cinética de extração.

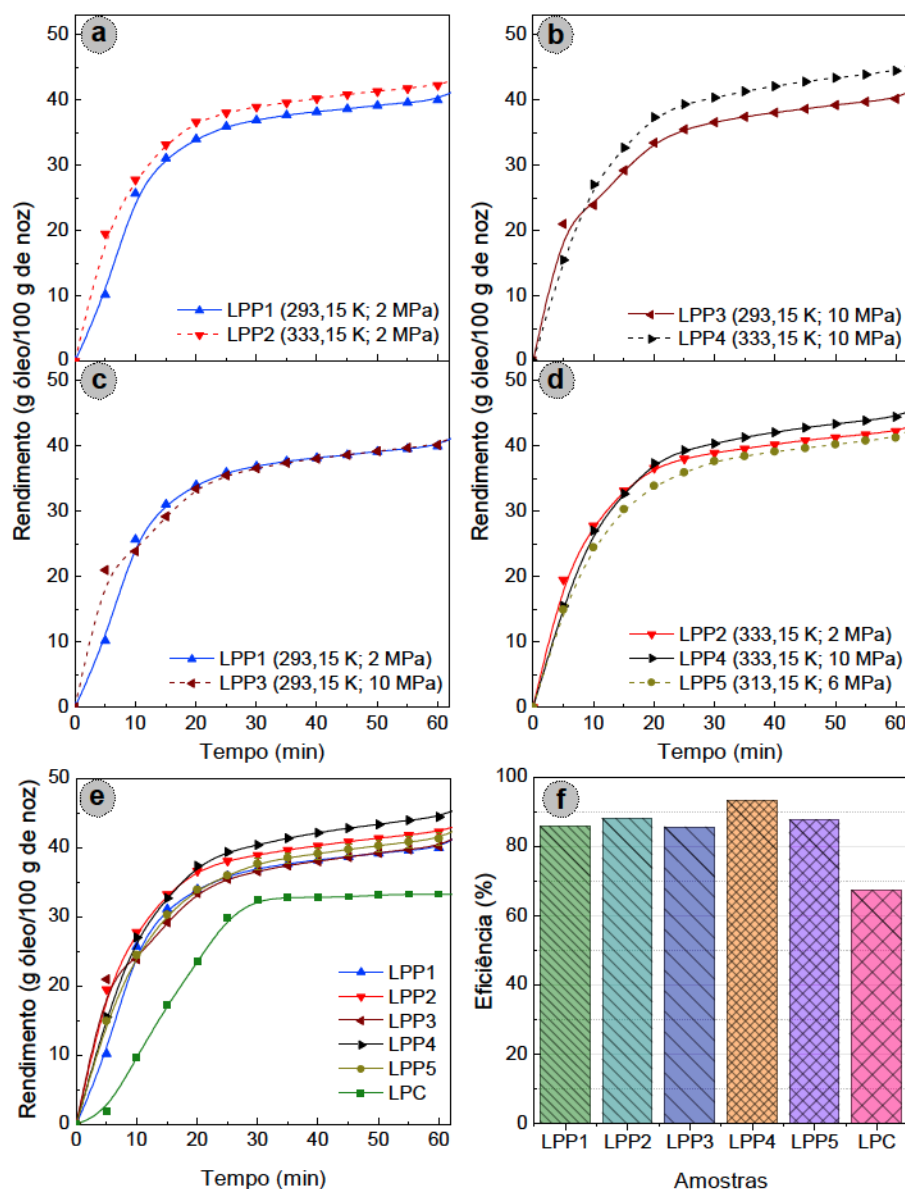


Figura 3.3 Influência da temperatura (a, b) e pressão (c, d) na extração de óleos de castanhas de sapucaia usando propano subcrítico (LPP1 a LPP5); uma comparação de toda a cinética da extração com propano subcrítico com a amostra obtida por CO₂ supercrítico com etanol 1:1 (m/m) como co-solvente (LPC) (e); e comparação da eficiência da extração com Soxhlet usando n-hexano (f). FONTE: O autor (2018).

A **Figura 3.4a** representa a superfície de resposta obtida usando o modelo linear (Eq. 1) e a **Figura 3.4b** é o gráfico de Pareto com o efeito das variáveis independentes sobre o rendimento total, obtido a partir da análise ANOVA. Na

Tabela 3.2 são apresentados os parâmetros do propano, incluindo densidades, viscosidades e solubilidade aparente em cada condição de extração.

Conforme mostrado na **Figura 3.3**, mesmo a menor pressão aplicada foi suficiente para atingir uma alta taxa inicial e quase todo o conteúdo de óleo foi extraído em poucos minutos. Do ponto de vista industrial, um curto período de extração é de grande interesse, pois também pode significar redução de custos, produção mais rápida e menor consumo de energia. Além disso, a extração a baixa temperatura também é importante, pois alguns componentes sensíveis à temperatura podem ser preservados após o período de extração.

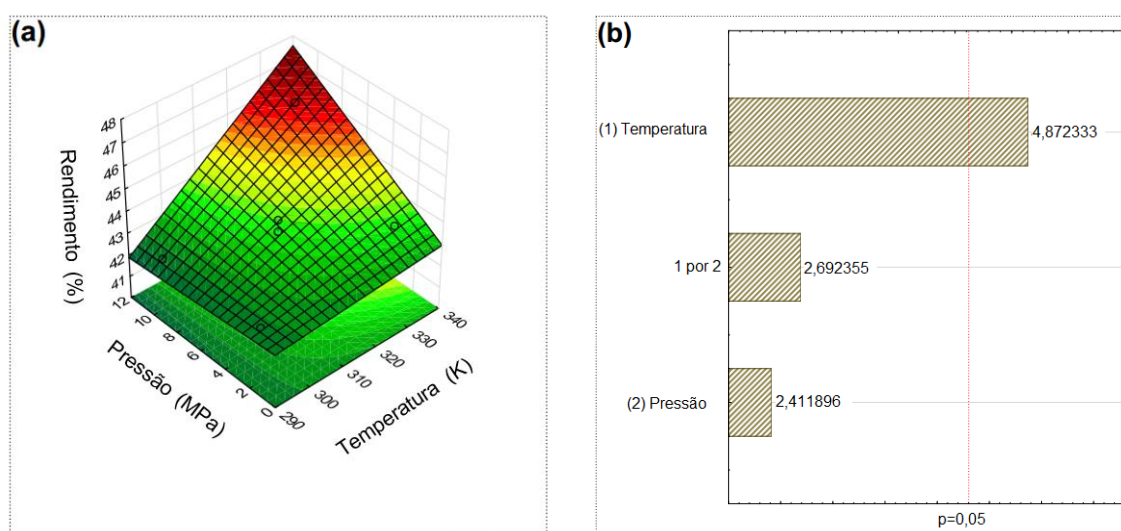


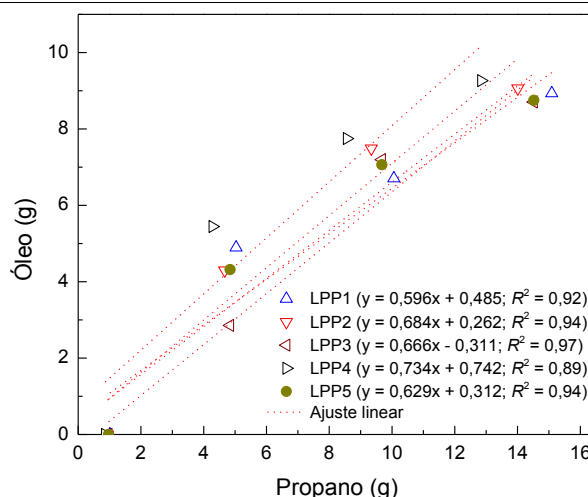
Figura 3.4 Superfície de resposta (a) e gráfico de Pareto (b) comparando os efeitos da temperatura e pressão sobre o rendimento da extração de óleo de sapucaia obtido pelo uso de propano comprimido. FONTE: O autor (2018).

Como já mencionado, todas as condições avaliadas apresentaram elevadas taxas iniciais de extração, e a extração máxima foi alcançada em cerca de 60 min. É observado na **Figura 3.3** e na **Figura 3.4** que a temperatura teve um efeito mais pronunciado no y_e (**Figura 3.4b**) a 10,0 MPa (**Figura 3.3b**) do que a 2,0 MPa (**Figura 3.3a**), uma vez que nas condições estudadas, o propano é um líquido comprimido e mudanças em a sua densidade com variações na pressão são pequenas (ver **Tabela 3.2**). As **Figura 3.3a** e **3.3b** evidenciam que um aumento na temperatura favorece as taxas iniciais de extração.

A **Eq. 2** ($R^2 = 0,94$) confirmou que apenas a temperatura (em negrito) contribuiu significativamente ($p < 0,05$) para um aumento no y_e dos óleos de sapucaia.

Tabela 3.2 Parâmetros para o propano em diferentes condições usadas na extração dos óleos de sapucaia

Amostra	T (K)	P (MPa)	Densidade (g/cm ³)*	Viscosidade (μPa·s)*	Solubilidade aparente (g _{óleo} /g _{solvente}) **
LPP1	293,15	2,0	0,503	104,610	0,596
LPP2	333,15	2,0	0,428	65,682	0,684
LPP3	293,15	10,0	0,521	118,760	0,666
LPP4	333,15	10,0	0,467	83,293	0,734
LPP5	313,15	6,0	0,484	92,417	0,629 ± 0,014 ^a



*Dados obtidos do *NIST Chemistry WebBook*. **calculado conforme recomendado por Sovová (2012), pelo gráfico linear dos pontos iniciais da extração; a = média ± desvio padrão. FONTE: O autor (2018).

A ANOVA (**Tabela 3.3**) também indica que o modelo foi significativo, provando que a temperatura pode influenciar a seletividade das frações lipídicas no ODS. Isso pode ser explicado, porque um aumento na temperatura pode causar uma redução na viscosidade do solvente (**Tabela 3.2**), aumento da pressão de vapor dos componentes extraídos e aumento da difusividade (CORREA *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2008; PESSOA *et al.*, 2015), diminuindo assim a resistência à transferência de massa, aumentando as propriedades de transporte (como o coeficiente de difusão) e facilitando a extração de óleo.

Vale ressaltar que alguns lipídios, como o ácido oleico, apresentam um aumento na solubilidade com o aumento da temperatura (SPARKS *et al.*, 2006). Além disso, na região subcrítica, em vez da pressão, a temperatura é o fator

determinante. O efeito positivo da temperatura usando propano subcrítico na extração de óleos de sementes de gergelim (CORSO *et al.*, 2010), canola (PEDERSSETTI *et al.*, 2011), perilla (SILVA *et al.*, 2015), e girassol (NIMET *et al.*, 2011) foi reportado anteriormente.

Tabela 3.3 Análise de variância (ANOVA) para o modelo de rendimento global da extração do óleo de sapucaia obtido com uso de propano subcrítico

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
T	6,219	1	6,219	23,740	0,040*
P	1,524	1	1,524	5,817	0,137
T.P	1,899	1	1,899	7,249	0,115
Falta de ajuste	0,071	1	0,071	0,270	0,655
Erro puro	0,524	2	0,262	-	-
Total	10,237	6	-	-	-

T, Temperatura; P, Pressão. *Significativo ao nível de 95% de confiança. FONTE: O autor (2018).

Embora a pressão tivesse um efeito positivo no y_e , os resultados mostraram que as mudanças neste parâmetro não têm efeito significativo (**Figura 3.3c**, **3.3d**, e **Figura 3.4**). O mesmo comportamento foi relatado por outros autores para diferentes matrizes sólidas (CORREA *et al.*, 2016; CORSO *et al.*, 2010). Além disso, a 313,15 K e 6,0 MPa (ponto central), a cinética de extração mostrou resultados próximos das outras condições (**Figura 3.3d**).

$$R_i = 39,3155 + 0,0107T - 2,5428P + 0,0086TP \quad (2)$$

As curvas da cinética de extrações sub- e supercrítica apresentam comportamento semelhante no início da extração, possivelmente porque o solvente está saturado com o extrato. Analisando todas as curvas juntas (**Figura 3.3e**), depois de alguns pontos, é visível que à medida que a temperatura aumenta, eles não se sobrepõem, e alguns deles são mais elevados do que os outros, o que mostra que a remoção de óleo fica mais fácil (**Figura 3.**). O rendimento da extração

atinge um patamar após um curto período, indicando uma alta solubilidade do ODS no solvente, o que é reportado como um comportamento comum ao se utilizar propano comprimido para extrair óleos vegetais (FREITAS *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2016a; TRENTINI *et al.*, 2017). Em sua grande maioria, as flutuações na taxa inicial da extração foram decorrentes da variação na densidade do propano (428,05 a 521,29 kg/m³), que depende da temperatura e pressão (**Tabela 3.2**). Além disso, o rendimento final da extração de óleos também pode ser afetado pela densidade do solvente. Como resultado, as mudanças nesses parâmetros podem afetar diretamente a cinética da extração (COELHO *et al.*, 2016; CORREA *et al.*, 2016; CZAIKOSKI *et al.*, 2015a, 2015b).

Conforme explicado por Sovová (2012), na extração estática, que ocorre antes da abertura da válvula do extrator na saída em $t = 0$, o equilíbrio foi estabelecido e, a partir da inclinação inicial da curva de extração cumulativa, a solubilidade aparente pode ser obtida. Deste modo, a solubilidade do óleo no solvente foi determinada pelo método dinâmico e foi calculada a partir da inclinação da parte linear das curvas de extração (SOVOVÁ, 2012) (ver gráfico na **Tabela 3.2**).

A partir da **Tabela 3.2** é possível notar que as condições do propano subcrítico utilizado nas extrações resultaram em valores de solubilidade aparente (S_{ap}) variando entre 0,596 e 0,734 g_{óleo}/g_{solvente}, evidenciando que existe um alto nível de óleo que é facilmente acessado pelo solvente. As condições de extração da amostra LPP4 proporcionaram um alto grau de solubilidade ($S_{ap} = 0,734$ g_{óleo}/g_{solvente}), resultando nas maiores quantidades de óleo extraídas. Silva *et al.* (2015) determinaram a solubilidade do óleo de perilla em propano comprimido nas condições de 40, 60 e 80 °C e 8, 12 e 16 MPa. Os valores foram de 0,40-0,48 g de óleo/g de solvente, que são próximos, porém menores do que os obtidos neste estudo.

A porcentagem de óleo na sapucaia pode variar devido a muitos fatores, incluindo condições agronômicas e região de produção. Vallilo *et al.* (1999) encontraram uma variação de quase 50% nos resultados de óleos extraídos de sapucaias obtidas de diferentes regiões do Brasil (34,2 a 61,3% de óleo). No presente estudo, os rendimentos do óleo foram próximos dos valores relatados por Vallilo *et al.* (1999) com amostras da região do Estado de São Paulo, e inferior ao relatado por Costa & Jorge (2012) (amostras do NO e NE do Brasil) e Carvalho *et al.* (2012c) (sapucaia de Viçosa-MG). Em nosso estudo anterior (TEIXEIRA *et al.*,

2017) usando técnicas de Bligh & Dyer e Soxhlet (com n-hexano), os rendimentos de óleo foram semelhantes a este trabalho (49,50 e 55,20%), respectivamente.

O propano comprimido mostrou excelente solubilidade na castanha de sapucaia, e a extração provou ser muito eficaz, apresentando rendimentos de extração ligeiramente inferiores aos obtidos pelo método convencional (**Figura 3.3f**). Também pode-se afirmar que a extração com propano comprimido tem rendimentos satisfatórios em comparação com o scCO₂ + etanol, onde a diferença entre o maior rendimento (LPP4) foi de ~26%. Além disso, é digno de nota que o tempo de extração usando propano subcrítico é muito menor que para a extração de Soxhlet. Adicionalmente, outra vantagem que a extração subcrítica apresenta é que o solvente é rapidamente separado do óleo simplesmente liberando a pressão. Pelo contrário, as extrações de Soxhlet e scCO₂ + etanol precisam de mais um passo para recuperar o solvente do óleo, o que requer maiores esforços energéticos sem garantir um produto totalmente livre de solvente.

3.3.3 Índice de iodo

O índice de iodo (II) reflete a quantidade de insaturação que o óleo apresenta. Valores mais elevados deste parâmetro indicam maior grau de insaturação, com maior probabilidade de ser um óleo líquido à temperatura ambiente em vez de uma gordura. Além disso, o valor do II pode refletir a susceptibilidade do óleo à oxidação. O II encontrada para as amostras de ODS obtidas neste trabalho (94,71-104,70 mg I₂/100 g, ver **Tabela 3.4**) está de acordo com a composição de ácidos graxos (AG), que mostra um alto grau de AG insaturados (COSTA; JORGE, 2012; VALLILO *et al.*, 1999), sendo a amostra LPS a que possui o menor II, indicando menor número de insaturações que as demais amostras. Os resultados aqui relatados são mais altos do que os valores relatados por Costa & Jorge (2012), e semelhantes aos relatados por Vallilo *et al.* (1999). O II para o óleo de castanhas de sapucaia é semelhante ao dos óleos de castanha-do-Brasil (103 mg I₂/100 g) (COSTA; JORGE, 2012), de milho (103-128 mg I₂/100 g), de algodão (99-119 mg I₂/100 g), e de amendoim (80-106 mg I₂/100 g) (KNOTHE, 2002).

Tabela 3.4 Índice de iodo e parâmetros de estabilidade dos óleos de sapucaia

Amostra	II (mg I ₂ /100 g)*	IP (h)	FP
LPP1	104,70 ± 0,03 ^a	10,80 ± 0,71 ^a	1,541 ± 0,084 ^a
LPP2	104,57 ± 0,04 ^a	11,17 ± 2,31 ^a	1,500 ± 0,299 ^a
LPP3	104,62 ± 0,14 ^a	7,38 ± 0,29 ^{bc}	0,991 ± 0,047 ^{bc}
LPP4	104,69 ± 0,05 ^a	7,34 ± 0,62 ^{bc}	0,986 ± 0,075 ^{bc}
LPP5	104,59 ± 0,31 ^a	6,53 ± 0,43 ^c	0,877 ± 0,065 ^c
LPC	104,29 ± 0,01 ^a	9,29 ± 0,59 ^{ab}	1,248 ± 0,088 ^{ab}
LPS	94,71 ± 0,13 ^b	7,44 ± 0,06 ^{bc}	-

*Calculado por diferença através do perfil de ácidos graxos de acordo com o método AOCS Cd 1c-85; II, índice de iodo; IP, período de indução; FP, fator de proteção (adimensional). Resultados são a média ± desvio-padrão (n=2); médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). FONTE: O autor (2018).

3.3.4 Estabilidade Oxidativa

Através da análise de Rancimat a 110 °C, o período de indução (IP) dos óleos de sapucaia foi estabelecido. O fator de proteção (FP) foi então calculado, considerando a amostra LPS como controle, dividindo-se o valor do IP das demais amostras pelo IP da LPS. Ambos os resultados são apresentados na **Tabela 3.4**. O ODS apresenta diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os valores de IP e FP de acordo com o método de extração. As amostras de óleo extraídas com n-hexano mostraram ~7,44 h de estabilidade, enquanto as extraídas com propano apresentaram valores entre 6,53-11,17 h. Além disso, amostras ODS extraídas com scCO₂ + etanol exibiram boa estabilidade contra a oxidação, com aproximadamente 9,29 h de IP. Os óleos extraídos com propano subcrítico a baixa pressão (2 MPa) foram as amostras que apresentaram melhor estabilidade, apresentando os maiores períodos de indução. Em contrapartida, as amostras obtidas a uma pressão mais alta (6 ou 10 MPa) apresentaram valores de IP mais baixos, indicando menor estabilidade oxidativa. Os valores para FP, que estão relacionados com a capacidade antioxidante dos óleos, também confirmaram que as amostras extraídas com solventes comprimidos apresentaram boas propriedades antioxidantes (FP > 1,0), e as que foram extraídas com valores de pressão mais altos foram menos efetivas contra a oxidação (FP < 1,0).

Teixeira *et al.* (2017) mostraram resultados de IP semelhantes para o ODS extraído pelas técnicas Soxhlet (7,18 h) e Bligh & Dyer (13,00 h). Um IP de 24,89 h

foi reportado para o ODS extraído por prensagem a frio (COSTA; JORGE, 2012), porém a avaliação no Rancimat nesse caso foi realizada a 100 °C, o que naturalmente aumenta o valor do IP. Nossos resultados são superiores ao IP para o óleo de girassol (4,91 h) e próximo aos óleos de macadâmia (7,38 h), castanha-do-Brasil (8,24 h), canola (8,63 h), avelã (8,88 h), nozes (9,87), milho (9,96 h) e de soja (12,0 h) (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2016).

3.3.5 Composição em ácidos graxos

As composições de ácidos graxos (AG) dos ODS obtidos são mostradas na **Tabela 3.5**. Neste estudo, os perfis de AG foram praticamente os mesmos, independentemente dos diferentes métodos de extração utilizados, exceto para a amostra extraída usando n-hexano (LPS). Foram identificadas onze AG diferentes. Os ácidos graxos insaturados (AGI) foram predominantes (77-79%) em todas as amostras, particularmente semelhante ao óleo de castanha-do-Brasil (FUNASAKI *et al.*, 2012; QUEIROGA NETO *et al.*, 2009b; SANTOS *et al.*, 2012). Os ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) representaram 42,06-50,85%; AG poliinsaturados (AGPI), principalmente ácido linoleico (ω -6) e α -linolênico, estavam entre 26,77-36,60%. Em relação aos AGMIs, o principal AG identificado nessas amostras de óleo de sapucaia foi o ácido oleico, que representou ~50% na LPS e aproximadamente 42% nas outras amostras. Os ácidos palmitoleico e gondóico foram identificados em quantidades inferiores a 0,2%.

A análise estatística mostrou uma diferença significativa ($p > 0,05$) entre os diferentes solventes utilizados em relação à composição de AG, particularmente a quantidade de ácidos oleico, linoleico e palmítico, que são a maioria dos AG nestes óleos. A extração com n-hexano resulta em níveis mais baixos de ácido linoleico, uma diminuição de aproximadamente 28% em comparação com os outros solventes. Por outro lado, o n-hexano fornece um óleo com uma quantidade de 18% maior de ácido oleico. Isso poderia estar relacionado à polaridade do solvente, que tem mais afinidade com determinados AG. Por exemplo, o ácido oleico, que é um AG de cadeia longa com uma ligação dupla, tem menor polaridade em comparação com outros ácidos graxos. Por este motivo, a extração com n-hexano proporcionou maior rendimento para este componente.

Tabela 3.5 Perfil de ácidos graxos dos óleos de sapucaia obtidos por meio de diferentes processos de extração

Ácidos graxos	Composição (%)						
	LPP1	LPP2	LPP3	LPP4	LPP5	LPC	LPS
Mirístico (C14:0)	0,09 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,00 ^a	0,09 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,04 ^a	0,09 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,00 ^a
Palmítico (C16:0)	15,22 ± 0,00 ^{ab}	15,06 ± 0,13 ^b	15,17 ± 0,03 ^{ab}	15,15 ± 0,04 ^{ab}	15,16 ± 0,06 ^{ab}	15,31 ± 0,01 ^a	13,95 ± 0,02 ^c
Palmitoleico (C16:1)	0,22 ± 0,01 ^{bc}	0,22 ± 0,01 ^{bc}	0,22 ± 0,01 ^{bc}	0,27 ± 0,04 ^{ab}	0,21 ± 0,01 ^c	0,28 ± 0,01 ^a	0,23 ± 0,00 ^{abc}
Margárico (C17:0)	0,06 ± 0,01 ^a	tr	0,07 ± 0,00 ^a	0,07 ± 0,00 ^a	tr	0,06 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,01 ^a
Estearico (C18:0)	5,53 ± 0,01 ^c	5,58 ± 0,02 ^b	5,47 ± 0,01 ^d	5,45 ± 0,01 ^d	5,45 ± 0,02 ^d	5,47 ± 0,00 ^d	8,00 ± 0,02 ^a
Oleico (C18:1)	42,18 ± 0,04 ^{cd}	42,71 ± 0,19 ^b	42,20 ± 0,05 ^c	42,01 ± 0,10 ^{cd}	41,73 ± 0,16 ^d	42,15 ± 0,01 ^{cd}	50,53 ± 0,12 ^a
Linoleico (C18:2)	35,83 ± 0,02 ^{abc}	35,52 ± 0,09 ^d	35,79 ± 0,07 ^{abc}	35,89 ± 0,05 ^{ab}	36,00 ± 0,02 ^a	35,61 ± 0,00 ^{cd}	26,17 ± 0,01 ^e
α-Linolênico (C18:3)	0,61 ± 0,01 ^a	0,60 ± 0,02 ^a	0,60 ± 0,01 ^a	0,60 ± 0,00 ^a	0,59 ± 0,02 ^a	0,60 ± 0,01 ^a	0,59 ± 0,00 ^a
Gondóico (C20:1)	0,09 ± 0,00 ^{ab}	0,07 ± 0,00 ^b	0,09 ± 0,01 ^{ab}	0,09 ± 0,00 ^{ab}	0,13 ± 0,04 ^a	0,08 ± 0,00 ^{ab}	0,09 ± 0,00 ^{ab}
Beénico (C22:0)	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Lignocérico (C24:0)	tr	tr	tr	0,05 ± 0,02	tr	tr	tr
Outros	0,11 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,02 ^a	0,20 ± 0,00 ^a	0,28 ± 0,01 ^a	0,57 ± 0,24 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	0,27 ± 0,13 ^a
Σ AGS ¹	20,90 ± 0,01 ^{bc}	20,75 ± 0,06 ^c	20,86 ± 0,03 ^{bc}	20,83 ± 0,05 ^{bc}	20,76 ± 0,07 ^c	20,97 ± 0,01 ^b	22,11 ± 0,02 ^a
Σ AGMI ²	42,49 ± 0,03 ^d	43,00 ± 0,19 ^b	42,50 ± 0,05 ^d	42,36 ± 0,07 ^{cd}	42,06 ± 0,13 ^c	42,50 ± 0,00 ^d	50,85 ± 0,12 ^a
Σ AGPI ³	36,43 ± 0,02 ^{abc}	36,11 ± 0,11 ^d	36,39 ± 0,07 ^{abc}	36,49 ± 0,05 ^{ab}	36,60 ± 0,05 ^a	36,21 ± 0,00 ^{cd}	26,77 ± 0,01 ^e
Σ AGPI + AGMI	78,93 ± 0,01 ^a	79,11 ± 0,08 ^a	78,89 ± 0,03 ^a	78,85 ± 0,02 ^a	78,66 ± 0,17 ^a	78,71 ± 0,00 ^a	77,62 ± 0,12 ^b
AGPI/AGS	1,75	1,74	1,74	1,74	1,76	1,73	1,21

¹ Ácidos graxos saturados; ² Ácidos graxos monoinsaturados; ³ Ácidos graxos poliinsaturados; tr: porcentagem < 0,05. Resultados são a média ± desvio-padrão (n=2); médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Duncan (p < 0,05). FONTE: O autor (2018).

Para AG de cadeia média (e.g. ácido palmítico), os solventes com alta polaridade parecem proporcionar maior eficiência de extração. Para a extração lipídica de leveduras, o tipo de solvente (álcool, éster, terpeno ou éter) tem um impacto significativo na composição de AG (BREIL *et al.*, 2016). O mesmo é válido para hexano, scCO₂, clorofórmio e metanol, que apresentam diferentes comportamentos na extração de lipídios de microalgas (LI *et al.*, 2014).

Representando entre 20,75-22,11% dos AG totais, os ácidos graxos saturados (AGS) dos óleos de sapucaia foram principalmente ácido palmítico (13,95-15,22%) e ácido esteárico (5,45-8,00%). Os ácidos mirístico e margárico foram identificados em quantidades menores, enquanto os ácidos beênico e lignocérico foram apenas traços. Diferentes composições de AG também foram encontradas para o óleo de gergelim de acordo com diferentes solventes utilizados no sistema Soxhlet. Quantidades mais elevadas de ácidos esteárico e oleico foram encontradas quando se utilizou éter de petróleo; usando etanol, os AG palmítico e linoleico foram os principais valores diferentes relatados (CARVALHO *et al.*, 2012a). Mesmo usando o propano em diferentes condições de *T* e *P*, o ODS mostrou a mesma composição de AG. Dentro dos parâmetros deste estudo, portanto, o propano não causa mudanças na distribuição de AG, provando também que não promove qualquer transformação de lipídios, como ocorre no óleo de farelo de arroz (SPARKS *et al.*, 2006).

A composição em AG do óleo de sapucaia obtida neste estudo é semelhante a outras relatadas na literatura, como Vallilo *et al.* (1999), Costa & Jorge (2012) e Carvalho *et al.* (2012c). Nestes estudos, os níveis de ácido oleico e linoleico variaram de 38,82 a 43,0% e de 39,90 a 56,30%, respectivamente. Vale ressaltar que a composição total de AG do ODS é bastante similar à do óleo de castanha-do-Brasil (CASTELO-BRANCO *et al.*, 2016). Por possuírem esta composição rica em AGI, as vantagens da ingestão de óleos de castanhas, como óleo de salada, também estão associadas com risco reduzido de doença cardíaca, coronária, diabetes e câncer (GHAZANI; MARANGONI, 2016).

3.3.6 Comportamento térmico do óleo de sapucaia

As curvas de cristalização e de fusão dos óleos de sapucaia estudados são mostradas na **Figura 3.5** e os parâmetros para cada evento térmico são mostrados nas **Tabela 3.6** e **Tabela 3.7** (cristalização e fusão, respectivamente). Durante o

resfriamento do ODS, foram detectados dois picos exotérmicos (**Tabela 3.6, Figura 3.5a**).

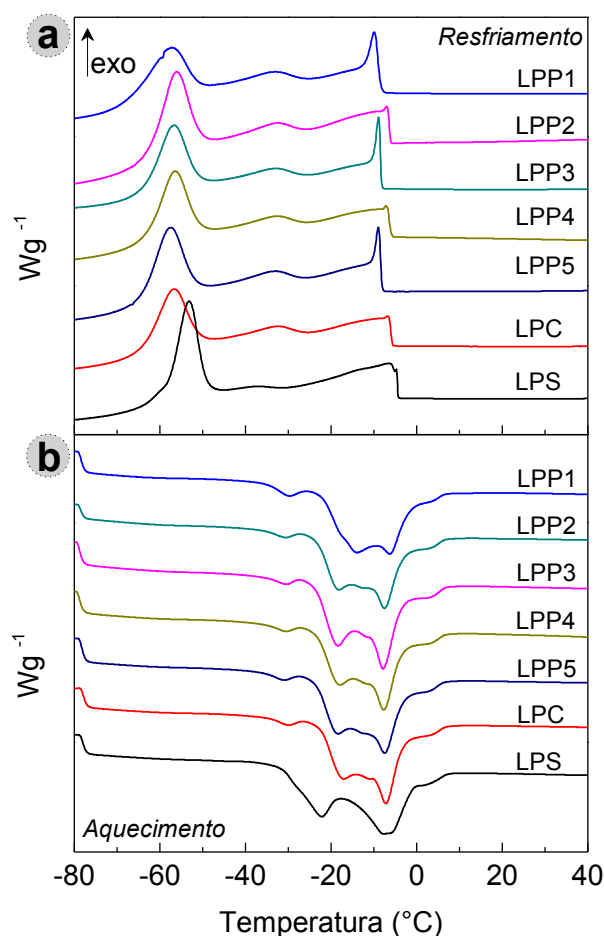


Figura 3.5 Curvas de DSC mostrando o comportamento de (a) cristalização (40 a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) e (b) fusão (-80 a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$) de óleos de sapucaia obtidos por meio de diferentes processos de extração. FONTE: O autor (2018).

Um pico mais estreito foi obtido em torno de $-4,49$ a $-8,65\text{ }^{\circ}\text{C}$ (T_{onset}). Nesse ponto, a cristalização dos TAGs deve ocorrer, uma vez que eles são cristalizados a temperaturas mais elevadas, e esse primeiro pico pode ser atribuído a uma fração de óleo que contém principalmente AGS como o ácido palmítico e o esteárico (BARBA; ARRIGHETTI; CALLIGARIS, 2013). Por outro lado, os AGI que representam aproximadamente 79% do óleo são completamente cristalizados no segundo pico mais profundo ($-49,17$ a $-51,54\text{ }^{\circ}\text{C}$; T_{endset}). A entalpia absoluta (H_{Tab} , $-5,38$ a $-9,94\text{ J/g}$), a entalpia para o pico principal (H_{PM} , $18,73$ a $25,99\text{ J/g}$), e a entalpia total (H_{Total} , $64,24$ a $85,69\text{ J/g}$) apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras, mostrando que os métodos de extração poderiam ser responsáveis por alterações no comportamento térmico dos óleos de sapucaia.

Tabela 3.6 Parâmetros de DSC para a o comportamento de cristalização (40 a -80 °C) dos óleos de sapucaia

	Pico 1			Pico 2			H_{Tab} (J/g) em 5,5 °C	H_{PM} (J/g)	H_{Total} (J/g)
	* TC_{onset}	* PC_M	* TC_{endset}	* TC_{onset}	* PC_M	* TC_{endset}			
LPP1	-8,65 ± 0,00 ^e	-9,92 ± 0,00 ^e	-12,28 ± 0,03 ^d	-50,87 ± 0,07 ^d	-57,50 ± 0,04 ^d	-64,66 ± 2,42 ^b	-8,09 ± 0,07 ^{ab}	18,73 ± 0,19 ^b	67,68 ± 1,77 ^b
LPP2	-8,22 ± 0,06 ^d	-8,84 ± 0,09 ^d	-10,29 ± 0,09 ^c	-50,89 ± 0,08 ^d	-56,75 ± 0,11 ^c	-63,66 ± 0,06 ^b	-7,68 ± 1,05 ^{ab}	22,60 ± 1,49 ^{ab}	74,80 ± 5,19 ^{ab}
LPP3	-6,59 ± 0,03 ^c	-7,00 ± 0,05 ^c	-7,84 ± 0,04 ^{ab}	-50,36 ± 0,01 ^c	-56,09 ± 0,08 ^b	-62,11 ± 0,00 ^{ab}	-9,94 ± 1,45 ^b	25,62 ± 1,22 ^a	85,69 ± 5,68 ^a
LPP4	-6,48 ± 0,11 ^c	-7,04 ± 0,16 ^c	-7,86 ± 0,02 ^{ab}	-50,76 ± 0,00 ^{cd}	-56,57 ± 0,05 ^{bc}	-63,12 ± 0,02 ^b	-5,38 ± 2,37 ^a	19,09 ± 2,97 ^b	64,24 ± 9,33 ^b
LPP5	-8,20 ± 0,03 ^d	-8,91 ± 0,09 ^d	-10,42 ± 0,16 ^c	-51,54 ± 0,08 ^e	-57,55 ± 0,14 ^d	-65,87 ± 1,48 ^b	-8,84 ± 0,15 ^{ab}	23,34 ± 0,38 ^{ab}	78,47 ± 1,45 ^{ab}
LPC	-6,14 ± 0,06 ^b	-6,58 ± 0,12 ^b	-7,67 ± 0,16 ^a	-49,76 ± 0,34 ^b	-56,27 ± 0,42 ^{bc}	-63,51 ± 0,93 ^b	-7,70 ± 0,36 ^{ab}	21,36 ± 0,80 ^{ab}	73,52 ± 3,44 ^{ab}
LPS	-4,49 ± 0,02 ^a	-4,70 ± 0,00 ^a	-8,44 ± 0,44 ^b	-49,17 ± 0,09 ^a	-53,14 ± 0,04 ^a	-58,38 ± 0,08 ^a	-7,36 ± 0,08 ^{ab}	25,99 ± 0,07 ^a	78,20 ± 1,41 ^{ab}

* Temperaturas em °C; resultados são a média ± desvio-padrão (n=2); médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). TC_{onset} , temperatura *onset* para cristalização; PC_M , temperatura de cristalização para o pico; TC_{endset} , temperatura *endset* para cristalização; H_{Tab} , entalpia total absoluta; H_{PM} , entalpia do pico principal; H_{total} , entalpia total. FONTE: O autor (2018).

Tabela 3.7 Parâmetros de DSC para a o comportamento de fusão (-80 a 40 °C) dos óleos de sapucaia

	$^*T_{M_{onset}}$	$^*P_{M_M}$	$^*T_{endset}$	H_{Tab} (J/g) em 20 °C	H_{PM} (J/g)	H_{Total} (J/g)
LPP1	$-14,74 \pm 0,27^b$	$-6,21 \pm 0,07^a$	$-3,69 \pm 0,18^d$	$151,05 \pm 2,06^{ab}$	$-2,35 \pm 0,38^a$	$-59,00 \pm 4,16^a$
LPP2	$-14,73 \pm 0,04^b$	$-7,59 \pm 0,01^{bcd}$	$-2,46 \pm 0,06^b$	$143,26 \pm 19,52^{ab}$	$-6,56 \pm 0,18^b$	$-68,97 \pm 3,02^{abc}$
LPP3	$-14,10 \pm 0,39^{ab}$	$-7,89 \pm 0,00^d$	$-2,90 \pm 0,09^c$	$174,67 \pm 9,79^a$	$-9,45 \pm 0,18^c$	$-73,41 \pm 1,75^c$
LPP4	$-14,36 \pm 0,04^{ab}$	$-7,60 \pm 0,10^{bcd}$	$-2,81 \pm 0,01^c$	$118,41 \pm 29,38^b$	$-7,13 \pm 1,05^b$	$-61,35 \pm 5,65^{ab}$
LPP5	$-15,87 \pm 0,15^c$	$-7,50 \pm 0,04^{bc}$	$-2,37 \pm 0,08^b$	$165,53 \pm 4,30^{ab}$	$-6,39 \pm 0,86^b$	$-70,40 \pm 0,83^{bc}$
LPC	$-13,75 \pm 0,42^a$	$-7,42 \pm 0,22^b$	$-2,67 \pm 0,12^{bc}$	$149,28 \pm 6,31^{ab}$	$-7,53 \pm 0,39^b$	$-68,64 \pm 1,60^{abc}$
LPS	$-19,35 \pm 0,22^d$	$-7,80 \pm 0,04^{cd}$	$0,40 \pm 0,01^a$	$148,88 \pm 1,75^{ab}$	$-18,37 \pm 0,05^d$	$-74,97 \pm 0,60^c$

* Temperaturas em °C; resultados são a média \pm desvio-padrão (n=2); médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). $T_{M_{onset}}$, temperatura *onset* para fusão; P_{M_M} , temperatura de fusão para o pico principal; T_{endset} , temperatura *endset* para fusão; H_{Tab} , entalpia absoluta total; H_{PM} , entalpia do pico principal; H_{total} , entalpia total. FONTE: O autor (2018).

As curvas de fusão dos óleos de sapucaia (**Figura 3.5b**) consistiram em um pico principal durante o processo de fusão, acompanhado por um ombro maior. Os resultados mostraram que a fusão do ODS começou de $-19,35$ a $-13,75$ °C. O pico principal foi observado na faixa de temperatura de $-6,21$ a $-7,89$ °C. As temperaturas de final para ODS foram encontradas de $0,40$ a $-3,69$ °C, onde os óleos devem ser totalmente líquidos. O processo compreendeu uma faixa de entalpia absoluta de fusão de $118,41$ a $165,53$ J/g, uma entalpia de pico principal entre $-2,35$ a $-18,37$ J/g e uma entalpia total de $-59,00$ a $74,97$ J/g. Os resultados indicaram que o comportamento de fusão do óleo de sapucaia pode ser significativamente dependente do método e da temperatura de extração (293 K a 333 K). Observa-se que a amostra extraída com n-hexano apresentou a maior diferença de comportamento térmico, sendo a única amostra totalmente líquida a uma temperatura acima de 0 °C. As mudanças no ponto de fusão sugerem a formação de novas espécies moleculares TAG, incluindo possivelmente a criação de TAGs dissaturados e trissaturados (GUEDES *et al.*, 2017).

O óleo de semente de papaia possui comportamento térmico comparável ao dos óleos de sapucaia, ambos apresentando um padrão de picos durante a fusão (um pico principal de $-3,5$ a $-1,8$ °C) e cristalização (dois picos a cerca de -10 °C e -45 a -59 °C) (SAMARAM *et al.*, 2014). Estes resultados também podem ser comparados ao azeite de oliva extra virgem (BARBA; ARRIGHETTI; CALLIGARIS, 2013), que apresentam um comportamento análogo, com parâmetros térmicos semelhantes aos apresentados pela amostra aqui estudada. A **Figura 3.5** também revela que, embora as amostras de óleo de sapucaia tenham comportamento semelhante tanto para a cristalização quanto para a fusão, algumas diferenças importantes podem ser encontradas na amostra extraída usando n-hexano (LPS).

3.3.7 Composição em triacilgliceróis do óleo de sapucaia

Triacilgliceróis (TAGs) são considerados a classe de lipídio único mais abundante (PHAM; PHAM, 2012), uma vez que compreendem mais de 95% da composição de gorduras e óleos (GHAZANI; MARANGONI, 2016). Algumas propriedades funcionais dos óleos não dependem apenas de sua composição de AG, mas também da distribuição desses AG nas três posições do esqueleto de glicerol (PHAM; PHAM, 2012), que são responsáveis por muitas implicações de

saúde e fisiológicas como consequência (GHAZANI; MARANGONI, 2016). Além disso, o valor comercial de uma gordura ou óleo é altamente influenciado pela sua composição de TAG (PHAM; PHAM, 2012). Adicionalmente, em muitos alimentos à base de gordura, algumas propriedades como o comportamento de fusão e cristalização são diretamente impactadas pela composição TAG daquela gordura/óleo (KARUPAIAH; SUNDRAM, 2007). A estrutura TAG também tem um papel principal em algumas propriedades, como textura, plasticidade e sensação na boca. O uso final adequado de um produto é mais frequentemente definido de acordo com as espécies TAG na gordura/óleo utilizado (PHAM; PHAM, 2012).

A **Figura 3.6** mostra o cromatograma típico de TAGs para os óleos de sapucaia. A **Tabela 3.8** revela que os TAG presentes no ODS são predominantemente OOO (13,71–14,91%) SOO (11,79–15,10%), POO (9,80–12,77%), PLO (8,50–12,51%) e POS (11,19–12,95).

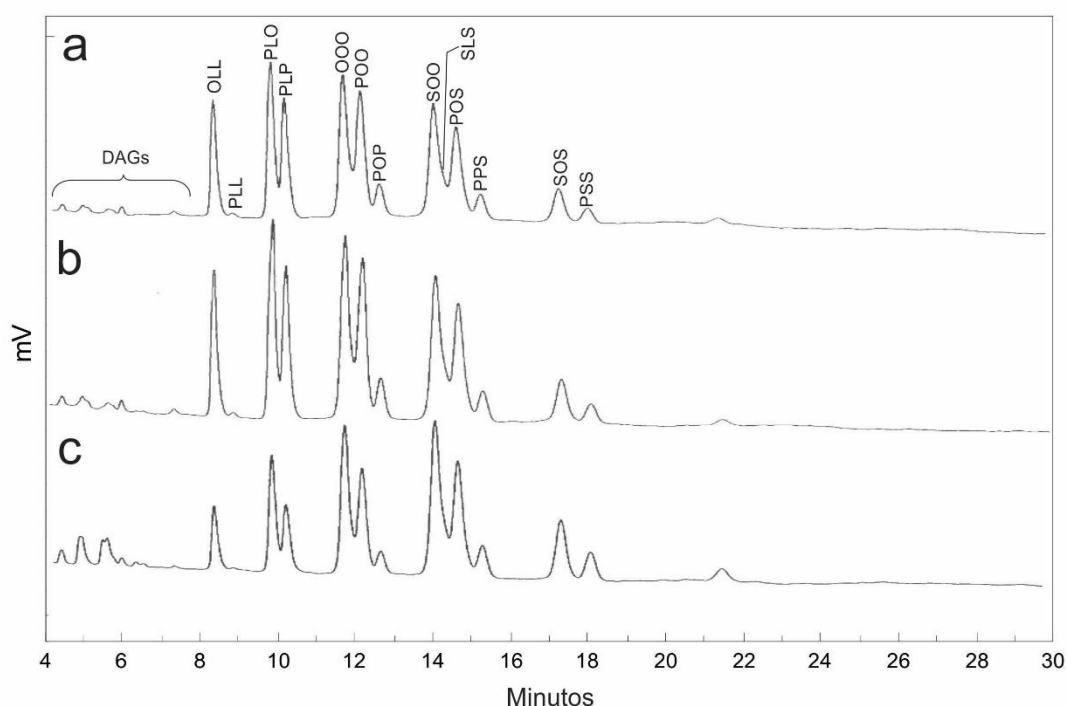


Figura 3.6 Cromatogramas de HPLC característicos para composição de TAG dos óleos de sapucaia obtidos por meio de propano subcrítico (a), CO₂ supercrítico com etanol 1:1 (m/m) como co-solvente (b) e n-hexano (c). FONTE: O autor (2018).

Os principais AG que constituem os TAG foram os ácidos oleico, linoleico, palmítico e esteárico. Este resultado está de acordo com a análise de cromatografia gasosa do conteúdo total de AG do ODS, na qual a composição de ácidos oleico (42–50%), linoleico (26–36%), palmítico (14–15%) e esteárico (5–8%) são

predominantes (**Tabela 3.5**). Estes dados reforçam a ideia de que os ácidos graxos, como o oleico (C18:1) ou linoleico (C18:2) em óleos vegetais, estão exclusivamente na posição *sn*-2 em espécies TAG (KARUPAIAH; SUNDRAM, 2007). Além disso, a composição TAG do óleo de sapucaia revela outra semelhança com a castanha-do-Brasil (FUNASAKI *et al.*, 2012), e mais surpreendentemente com o azeite de oliva, cujos principais TAG são OOO (21,8–43,1%) e POO (20–23,1%) (PHAM; PHAM, 2012), e também com o óleo de farelo de arroz (os principais TAGs são PLO, PLL e OOO) (GHAZANI; MARANGONI, 2016).

Entre os motivos das variações na composição de TAG em amostras da mesma espécie, pode-se citar a coleta de material em diferentes locais geográficos ou em diferentes períodos de crescimento. Além disso, os óleos com a mesma composição de ácidos graxos podem não ter as mesmas propriedades físicas, químicas ou fisiológicas, devido às diferenças na composição de TAG, o que também influencia a digestão (GHAZANI; MARANGONI, 2016), absorção e transporte no organismo humano (KARUPAIAH; SUNDRAM, 2007).

Tabela 3.8 Composição em triacilgliceróis (TAG) dos óleos de sapucaia obtidos por meio de diferentes processos de extração

Composição (%)							
TAG	LPP1	LPP2	LPP3	LPP4	LPP5	LPC	LPS
OLL	8,25 ± 0,17 ^a	8,11 ± 0,06 ^a	8,21 ± 0,06 ^a	8,34 ± 0,13 ^a	8,19 ± 0,05 ^a	8,12 ± 0,05 ^a	4,15 ± 0,15 ^b
PLL	0,28 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a	0,27 ± 0,07 ^a	0,29 ± 0,01 ^a	0,30 ± 0,02 ^a	0,27 ± 0,01 ^a	0,12 ± 0,13 ^b
PLO	12,22 ± 0,06 ^a	12,30 ± 0,16 ^a	12,47 ± 0,06 ^a	12,39 ± 0,29 ^a	12,51 ± 0,08 ^a	12,39 ± 0,00 ^a	8,50 ± 0,19 ^b
PLP	9,81 ± 0,04 ^a	9,75 ± 0,13 ^a	10,14 ± 0,04 ^b	9,96 ± 0,12 ^{ab}	9,96 ± 0,11 ^{ab}	9,92 ± 0,12 ^{ab}	5,15 ± 0,15 ^c
OOO	14,73 ± 0,10 ^a	14,77 ± 0,13 ^a	14,62 ± 0,05 ^a	14,91 ± 0,39 ^a	14,48 ± 0,11 ^a	14,73 ± 0,06 ^a	13,71 ± 0,28 ^b
POO	12,63 ± 0,08 ^a	12,47 ± 0,03 ^a	12,77 ± 0,13 ^a	12,68 ± 0,29 ^a	12,53 ± 0,09 ^a	12,72 ± 0,08 ^a	9,80 ± 0,04 ^b
POP	3,26 ± 0,14 ^a	3,04 ± 0,03 ^a	3,20 ± 0,18 ^a	3,10 ± 0,06 ^a	3,09 ± 0,06 ^a	3,05 ± 0,06 ^a	2,02 ± 0,01 ^b
SOO	12,73 ± 0,59 ^b	12,03 ± 1,30 ^b	12,09 ± 0,85 ^b	12,23 ± 0,07 ^b	11,79 ± 0,00 ^b	12,37 ± 0,50 ^b	15,10 ± 0,06 ^a
SLS	2,40 ± 0,66 ^a	2,95 ± 0,98 ^a	2,72 ± 0,66 ^a	2,53 ± 0,05 ^a	3,09 ± 0,18 ^a	2,49 ± 0,41 ^a	2,86 ± 0,18 ^a
POS	11,42 ± 0,01 ^b	11,59 ± 0,47 ^b	11,71 ± 0,04 ^b	11,19 ± 0,09 ^b	11,32 ± 0,06 ^b	11,44 ± 0,10 ^b	12,95 ± 0,45 ^a
PPS	2,71 ± 0,13 ^b	2,68 ± 0,23 ^b	2,70 ± 0,04 ^b	2,59 ± 0,08 ^b	2,67 ± 0,14 ^b	2,72 ± 0,13 ^b	3,18 ± 0,27 ^a
SOS	4,39 ± 0,23 ^b	4,61 ± 0,01 ^b	4,32 ± 0,13 ^b	4,58 ± 0,33 ^b	4,78 ± 0,54 ^b	4,57 ± 0,05 ^b	7,12 ± 0,18 ^a
PSS	1,84 ± 0,01 ^b	1,60 ± 0,63 ^b	1,79 ± 0,11 ^b	1,92 ± 0,13 ^b	1,91 ± 0,02 ^b	1,90 ± 0,02 ^b	3,35 ± 0,11 ^b

O, ácido oleico; L, ácido linoleico; P, ácido palmítico; S, ácido esteárico. Resultados são a média ± desvio-padrão (n=2); médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). FONTE: O autor (2018).

3.4 CONCLUSÕES

O óleo de sapucaia (ODS) foi obtido usando propano subcrítico (SPE), CO₂ supercrítico (usando etanol como co-solvente) e por extração convencional (Soxhlet) com hexano. Ao usar SPE, os melhores resultados foram alcançados aplicando-se altas pressão e temperatura (10 MPa e 333 K), obtendo-se um rendimento de 46,22% nestas condições. A extração do ODS com propano subcrítico proporciona rendimentos de extração satisfatórios em 60 minutos, o que representa ~93% do rendimento obtido pela extração clássica. Os ácidos oleico e linoleico predominaram na composição de ácidos graxos dos óleos obtidos nos diferentes métodos e condições. Elevada estabilidade à oxidação foi medida por Rancimat, variando de 6,53 a 11,17 h. Os métodos de extração usando solventes comprimidos impactaram em mínimas alterações no comportamento de fusão e cristalização dos ODS, porém, a extração de n-hexano causou efeitos mais pronunciados nesses parâmetros. A composição de triacilglicerol (TAG) para o óleo de sapucaia é apresentada pela primeira vez, e os TAG são predominantemente OOO, SOO, POO, PLO e POS. A partir dos resultados obtidos, pode-se confirmar que o propano é um solvente mais adequado para a extração de óleo de sapucaia do que o dióxido de carbono, pois com seu uso obtiveram-se maiores rendimentos de extração. Em geral, esse estudo destaca a aplicação do propano comprimido na eficiente extração de um óleo de excelente composição, e que tem um grande potencial para uso nas indústrias alimentícia, farmacêutica e química.

CAPÍTULO 4

Propriedades físico-químicas, térmicas e funcionais da farinha de sapucaia parcialmente desengordurada usando fluidos pressurizados

O conteúdo desse capítulo foi submetido na revista *Food Research International* e sua formatação segue as normas do referido periódico

Propriedades físico-químicas, térmicas e funcionais da farinha de sapucaia parcialmente desengordurada usando fluidos pressurizados

Resumo

Avaliou-se neste estudo a influência de processos de extração sub- e supercrítico (com propano ou CO₂) nas propriedades físico-químicas, térmicas e funcionais de farinha parcialmente desengordurada de sapucaia (FDS), comparando-as com uma FDS obtida pela extração com éter de petróleo. Os resultados mostraram que os processos de desengorduramento com propano comprimido nas condições aqui estudadas, de um modo geral, pouco afetam a morfologia dos grânulos, e as características físico-químicas da FDS, causando um mínimo de impacto no perfil nutricional das amostras. Por outro lado, as análises termogravimétricas revelaram que há influência dos processos de extração lipídica na estabilidade à degradação térmica das FDS. Características funcionais como capacidade emulsionante, propriedades de espuma, além de elevada capacidade de absorção de água e óleo foram observadas para FDS, que foram também eficazes na produção de emulsões cuja estrutura apresentou gotas de tamanho micrométrico, com alegada estabilidade. Em termos gerais, a FDS pode ser um ingrediente para produção de gêneros alimentícios com elevadas propriedades nutricionais e funcionais.

4.1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma grande variedade de nozes e castanhas comestíveis, utilizadas em diversos segmentos alimentícios que vão desde o uso *in natura*, até utilização como temperos, condimentos e na extração dos óleos e produção de bebidas (WICKENS, 1995). Em sua maioria, as castanhas são fonte rica de macro e micronutrientes, bem como de compostos bioativos que estão relacionados à melhoria nas condições de saúde aos consumidores (FREITAS *et al.*, 2012). A ingestão de castanhas é relacionada diretamente à prevenção de doenças cardiovasculares e hipertensão (CARVALHO *et al.*, 2015; HUGUENIN *et al.*, 2015). Diversos frutos secos brasileiros pouco difundidos como a sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) têm sido estudados e os resultados indicam composição de importância nutricional, além de apresentarem grande potencial para a indústria de alimentos (CARVALHO *et al.*, 2008; DENADAI *et al.*, 2007; MARTINS *et al.*, 2016; NAOZUKA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*, 2017, 2018; VALLILO *et al.*, 1998; ZANI *et al.*, 2013).

As castanhas de sapucaia apresentam constituição química variável, conforme local de cultivo e coleta, condições de produção, entre outros fatores. O seu conteúdo lipídico, que pode chegar a até 64% (CARVALHO *et al.*, 2008), apresenta composição rica em ácidos graxos insaturados e compostos fenólicos com características antioxidantes (TEIXEIRA *et al.*, 2017). Com baixo teor de umidade (entre 3 a 10%), a sapucaia também se destaca por seu conteúdo proteico e de carboidratos que podem variar de 18 a 29% e 5 a 11%, respectivamente. O resíduo mineral varia em torno de 3%, e o conteúdo de fibras em 7% (CARVALHO *et al.*, 2012c, 2008; VALLILO *et al.*, 1999).

O correto direcionamento de matrizes agroindustriais para a produção de gêneros alimentícios é um ponto crucial na valorização da cadeia produtiva nacional, impulsionando-se com isso, a economia ligada à produção da matéria-prima em questão, agregando valor, além da indireta redução nas ações de desmatamento por consequência da valorização da espécie vegetal produtora (TEIXEIRA *et al.*, 2018). A torta ou farinha desengordurada de matrizes vegetais resultantes da extração do seu óleo, possui elevado potencial industrial, por constituir rica fonte proteica e de carboidratos. Além disso, o residual lipídico

influencia positivamente por carrear consigo as características benéficas dos seus ácidos graxos.

Essa farinha não é considerada um resíduo, por apresentar diversas características de interesse industrial, seja para uso na produção de gêneros alimentícios para humanos (BHISE; KAUR; AGGARWAL, 2015; CHAN *et al.*, 2013; COSCUETA *et al.*, 2016; GANORKAR *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2012; GUIMARÃES *et al.*, 2012a; LING *et al.*, 2016; NAVARRO; RODRIGUES, 2016; PARK; PARK, 2016; SAIRAM; GOPALA KRISHNA; UROOJ, 2011; TRENTINI *et al.*, 2016; TURAN; CAPANOGLU; ALTAY, 2015), para alimentação animal (BEN SALEM; MAKKAR, 2009; ÖNDER; ACAR, 2016; SUPRAYUDI *et al.*, 2016), produção de cogumelos (PARDO-GIMÉNEZ *et al.*, 2016), ou até mesmo na produção de adesivos (ZHENG *et al.*, 2017).

Farinha de frutos secos desengordurados como a do baru (*Dipteryx alata*) têm sido utilizadas para a produção de alimentos como farinha e cookies (PINELLI *et al.*, 2015) com qualidade nutricional melhorada. Proteína isolada de soja tem sido incorporada na composição de emulsionados de salsicha de búfalo, melhorando suas características como coloração, textura e suculência (AHMAD; RIZAWI; SRIVASTAVA, 2010). A suplementação com castanha-do-Brasil parcialmente desengordurada apresenta efeitos benéficos na redução do colesterol (CARVALHO *et al.*, 2015) e na melhoria de biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos hipertensos e dislipidêmicos (HUGUENIN *et al.*, 2015), reforçando os benefícios da utilização de farinha de castanhas na alimentação humana.

Para que haja um adequado uso de farinhas desengorduradas destinadas à alimentação humana, fazem-se necessários estudos sobre suas mais diversas características, com vistas principalmente em averiguar suas propriedades funcionais, desvendar seus benefícios, possíveis malefícios e até mesmo suas limitações de aplicabilidade na indústria. Técnicas analíticas que originam resultados relevantes para a indústria de alimentos incluem as análises térmicas (termogravimetria), análises microscópicas, e técnicas colorimétricas, trazendo respostas às mais diversas questões relacionadas à matriz em estudo, proporcionando um correto direcionamento industrial (BEN OTHMAN *et al.*, 2015; GUIMARÃES *et al.*, 2012a; LING *et al.*, 2016; OLOYEDE *et al.*, 2016; SILVA; GARCIA; ZANETTE, 2016).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição físico-química e as propriedades funcionais de farinhas de castanhas de sapucaia parcialmente desengorduradas por fluidos pressurizados, utilizando propano comprimido e dióxido de carbono supercrítico (com etanol como co-solvente), bem como a influência dos processos de extração nas características dos produtos obtidos, comparando-os com a farinha obtida por processo clássico com éter de petróleo.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Obtenção das amostras de sapucaia

As amostras de sapucaia utilizadas no presente estudo foram obtidas em uma pequena área localizada em Araguañá-MA (Latitude: 3°02'06.9"S; Longitude: 45°38'31.3"W), em novembro de 2016. As amostras foram secas em estufa a 43 °C por 24 h para diminuição da umidade. A remoção das cascas foi realizada com o auxílio de utensílio doméstico de aço inoxidável (quebra-nozes). Após descascadas, as castanhas foram embaladas em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade (espessura 20 µm), trituradas manualmente com o auxílio de um pequeno martelo plástico, e em seguida, passadas por peneiras da série Tyler, com *mash* de números 8, 12 e 24. Pedacos de sapucaia que passaram através da peneira #8 e que ficaram retidos na peneira #12 foram utilizadas para obtenção da farinha desengordurada.

4.2.2 Processos de desengorduramento da sapucaia

O conteúdo de gordura presente nas amostras de sapucaia foi removido por três métodos diferentes: a) extração subcrítica utilizando propano (L1 a L5); b) extração supercrítica utilizando dióxido de carbono (CO₂) + etanol (1:1, m/m) como co-solvente (LC); c) extração clássica por Soxhlet, utilizando éter de petróleo. A amostra obtida por extração Soxhlet foi utilizada basicamente como controle. Todas as condições de extração estão sintetizadas na **Tabela 4.1**.

4.2.2.1 Extrações utilizando fluidos sub- e supercríticos

Os experimentos para extração do conteúdo lipídico foram realizados na unidade de extração supercrítica do Laboratório de Cinética e Termodinâmica Aplicada (LACTA), da UFPR, conforme explicado em detalhes na **seção 3.2.2.2** do **Capítulo 3**. Os rendimentos das farinhas desengorduradas foram estimados a partir da subtração da massa inicial da amostra de sapucaia alimentada menos a massa de óleo extraída.

4.2.2.2 Extração clássica

O óleo de sapucaia foi extraído usando um sistema de Soxhlet por 6 h, usando éter de petróleo como solvente (AOCS, 1997). Aproximadamente 30 g de amostra da sapucaia foi utilizada em cada replicata ($n=3$). O solvente foi removido a 43 °C em estufa de circulação de ar por 24 h. A amostra foi então embalada a vácuo em saco plástico de polietileno de baixa densidade (PEBD) e mantida sob refrigeração até as análises posteriores.

4.2.3 Preparo e caracterização das farinhas desengorduradas

Após a obtenção das amostras de sapucaia desengorduradas, todas foram moídas com o auxílio de moinho de facas (MA630/1, Marconi Ltda., Brasil) a fim de reduzir o tamanho das partículas e obter um pó fino, o qual foi utilizado para as análises subsequentes. Todas as amostras foram embaladas a vácuo em sacos plásticos de PEBD (espessura 20 µm), e mantidas sob refrigeração (14 °C) até as análises posteriores.

4.2.3.1 Composição centesimal e análise de cor

A umidade e as cinzas foram determinadas por meio da termogravimetria-TG (método descrito na seção 4.2.3.3) conforme recomendado por Kaspchak *et al.* (2017), onde a umidade foi estimada pela perda de massa entre 30 e 150 °C, e considerou-se cinzas o resíduo restante ao final da análise a 900 °C. A concentração total de N foi determinada usando um sistema analisador de

Carbono/Nitrogênio por combustão a seco LECO FP-528 (LECO, Michigan, EUA), usando EDTA (9,59% N) como padrão, de acordo com o método oficial da AOCS Ba 4e-93 (AOCS, 1997). O conteúdo de proteína foi calculado multiplicando o teor de N total pelo fator 5,46. O teor de lipídios foi determinado por Soxhlet. O teor de carboidratos totais foi estimado por diferença. O valor energético total foi calculado seguindo-se os valores de conversão de Atwater, por meio da multiplicação do conteúdo de carboidratos e proteínas por 4 kcal/g e o de lipídios por 9 kcal/g.

A cor das amostras foi medida usando colorímetro espectrofotométrico MiniScan XE plus (HunterLab, Alemanha) e expressa em valores do sistema de cor CIELab, onde L^* = luminosidade, a^* = coordenada vermelho/verde (+ a indica vermelho e $-a$ indica verde), e b^* = coordenada amarelo/azul (+ b indica amarelo e $-b$ indica azul). O Chroma (saturação ou intensidade da cor; 0 – cor impura e 60 – cor pura), e ângulo Hue foram obtidos através das fórmulas: $\text{Chroma} = [(a^2 + b^2)^{1/2}]$; $\text{Hue} = [\arctan(b/a)]$.

4.2.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas utilizando microscópio JEOL JSM 6360-LV (Jeol Company, Tóquio, Japão). As amostras foram fixadas em suportes de cobre utilizando uma fita adesiva de dupla face e depois cobertas com revestimento de ouro (Au). As micrografias foram obtidas através do microscópio eletrônico de varredura, sob vácuo e 15 kV de aceleração de voltagem com ampliação de 1.700 \times . A área dos grânulos foi calculada usando o *software* ImageJ 1.51s (ImageJ para Windows)

4.2.3.3 Análise termogravimétrica

As análises TGA foram realizadas em um equipamento TGA 4000 (PerkinElmer Inc. Waltham, EUA). Aproximadamente 5 mg da amostra foi colocada na panela de platina e depois levada ao forno, onde foi aquecida de 30 °C a 900 °C (10° C/min) em atmosfera de ar sintético (fluxo de 50 mL/min). Os dados com as alterações de massa das amostras foram obtidos e analisados usando o *software* Pyris™. A curva termogravimétrica (TG) e a derivada termogravimétrica (DTG) foram analisadas adicionalmente com o *software* Origin 8.6 (OriginLab,

Massachusetts, EUA). A estabilidade térmica foi medida a partir da extrapolação da temperatura de início do primeiro evento de decomposição térmica das respectivas curvas TG. As temperaturas de início e final dos respectivos picos DTG foram utilizadas como limites de temperatura para o *software* de análise de dados do instrumento.

4.2.3.4 Difratometria de raios-X (DRX)

A difratometria de raios-X foi realizada em difratômetro de raios-X (Bruker–modelo D8 Advance), a 25 °C, empregando radiação Cu K α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) configurada a 40 kV e 20 mA. A radiação dispersa foi detectada no intervalo angular de 5° a 60° (2 θ), a velocidade de escoamento de 2°/min, a um passo de 0,060°. O grau de cristalinidade relativa foi estimado pelo *software* do equipamento.

4.2.3.5 Espectroscopia no Infravermelho

A análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, no modo de reflectância difusa (DRIFTS) foi realizada utilizando um espectrômetro Vertex-70 (Bruker, EUA) com um acessório de reflectância difusa, a 25 °C. Os espectros DRIFTS foram registados na faixa de números de onda de 500 a 4000 cm^{-1} com uma resolução espectral de 4 cm^{-1} , e 1024 *scans*. Os espectros de reflectância foram analisados após a transformação da porcentagem de reflectância em absorbância [$\log_{10} (1/\text{Reflectância})$] (CARIOCA; FERREIRA, 2011).

4.2.4 Propriedades funcionais das farinhas de sapucaia

4.2.4.1 Espectro Ultravioleta

Para cada amostra, uma solução aquosa contendo 1 mg/mL da farinha desengordurada de sapucaia foi preparada em balão de 50 mL. A solução foi submetida a agitação leve, e em seguida uma alíquota de 2 mL foi transferida para *ependorf* e centrifugada (Heraeus Fresco 21, Fisher Scientific) a $5.000 \times g$ por 5

min. O sobrenadante foi então utilizado para obtenção do espectro UV-Vis (UV-1800, Shimadzu, Kyoto, Japão) na faixa entre 190 a 400 nm.

4.2.4.2 Turbidez das dispersões

Dispersões aquosas contendo 1% (m/v) de farinha de sapucaia foram agitadas em *vortex* por 2 minutos. Em seguida, uma alíquota foi transferida para cubeta de quartzo e a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-Vis (Spectro 3000W, Marte Científica) a 500 nm. O valor obtido foi utilizado com parâmetro de turbidez.

4.2.4.3 Capacidade de retenção de óleo ou água

A capacidade de retenção de óleo (CRO) ou água (CRA) foi determinada usando o método descrito por Ling *et al.* (2016) com pequenas modificações. Aproximadamente 1,0 g de amostra (base seca) de cada farinha (m_1) foi pesado em tubo de centrífuga de 50 mL (m_2) de massa conhecida, e 20 mL de óleo de soja ou água foram adicionados. A dispersão resultante foi então agitada em *vortex* por 2 min e deixada em descanso por 30 min a temperatura ambiente, seguida de centrifugação (Excelsa II, Fanem, Brasil) a 3493 $\times g$ (5000 rpm) por 10 min. O sobrenadante foi descartado com cuidado e deixou-se o tubo com sedimento escorrer por 2 min antes de ser pesado novamente (m_3). A CRO ou CRA foram expressas como a quantidade de óleo/água retido por grama de amostra de farinha de sapucaia, conforme a equação seguinte:

$$\text{CRO/CRA (g /g de farinha)} = \frac{m_3 - m_2 - m_1}{m_1} \quad (4)$$

4.2.4.4 Propriedades de espuma

Um volume de 25 mL da solução aquosa contendo 1% (m/v) de farinha de sapucaia foi homogeneizado com o homogeneizador Polytron a 15.000 rpm por 3 min. A espuma e a solução obtidas foram transferidas para uma proveta de vidro de 50 mL. O volume da porção de espuma foi medido a 0 min para capacidade

espumante (CE) e após 30 min de repouso para estabilidade da espuma (EE). Cada amostra foi avaliada em duplicata. CE e EE foram calculados conforme as equações:

$$CE (\%) = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \quad (5)$$

$$EE (\%) = \frac{V_2 - V_1}{V_0} \quad (6)$$

onde V_0 = volume antes da agitação (mL); V_1 = volume após agitação (mL); V_2 = volume após repouso (mL)

4.2.4.5 Preparo e avaliação das emulsões

As emulsões óleo-em-água foram preparadas através da dispersão de 25% de óleo de soja em solução aquosa contendo 1% da farinha de sapucaia, seguida de agitação usando um homogeneizador Polytron (PT 3100 D, Kinematica AG, Suíça) a 15.000 rpm por 5 min. Cada emulsão foi imediatamente analisada após o preparo.

4.2.4.6 Índices de atividade emulsionante (IAE) e de estabilidade da emulsão (IEE)

O índice de atividade emulsionante (IAE) e de estabilidade da emulsão (IEE) das farinhas de sapucaia foram determinadas conforme o método de Pearce & Kinsella (1978) com pequenas modificações propostas por Zhang *et al.* (2014). Uma alíquota de 50 μ L da emulsão foi coletada nos tempos 0 e 10 min após a homogeneização, às quais foram adicionados 5 mL de solução 0,1% (m/v) de dodecil sulfato de sódio (SDS). A absorbância destas soluções foi medida em espectrofotômetro a 500 nm imediatamente (A_0) e 10 min (A_{10}) após o preparo da emulsão, cujos valores foram usados para calcular o IAE e o IEE conforme as seguintes equações:

$$IAE (m^2/g) = \frac{2 \times 2,303 \times A_0}{F \times C} \quad (7)$$

$$IEE (\%) = \frac{A_{10} \times \Delta t}{\Delta A} \quad (8)$$

onde F é a fração volumétrica de óleo (0,25); A_0 é a absorbância no tempo 0, e A_{10} no tempo 10 min após a homogeneização; $\Delta t = 10$ min; $\Delta A = A_0 - A_{10}$. As análises foram realizadas a 25 °C em triplicata.

4.2.4.7 Teste de estabilidade por separação de fases

Imediatamente após o preparo, três alíquotas de 10 mL de cada emulsão foram transferidas para tubos de centrifuga de 15 mL, e a fase separada (mL) na parte inferior do tubo foi medida nos tempos 0, 10, 20, 30, 60 e 120 min.

4.2.4.8 Microestrutura e distribuição de tamanho de gotas das emulsões

A fim de avaliar a distribuição do tamanho de gota (*droplet size distribution*, DSD) e o efeito de cada farinha na microestrutura interna das emulsões, realizou-se uma análise de microscopia óptica conforme indicado por Teixeira *et al.* (2016), usando um microscópio invertido Zeiss Axio Observer D1 (Zeiss Vision GmbH, Alemanha) com ampliação de 80 ×. Para isso, uma gotícula da emulsão recém-preparada foi cuidadosamente disposta em lâmina de vidro (76 mm × 26 mm) e coberta por uma lamínula (18 mm × 18 mm). As imagens foram capturadas pela AxioCam com auxílio do *software* AxioVision (v. 4.8.2). A DSD foi obtida com ajuda do *software* ImageJ usando a ferramenta de medição de tamanho de partículas, utilizando três micrografias capturadas para cada amostra, de modo a medir pelo menos 1000 gotas por amostra. O teste de Duncan foi aplicado para verificar diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre a DSD das emulsões.

4.2.5 Análise estatística dos dados

Na análise dos dados experimentais, médias e desvios-padrão foram calculados com auxílio do *software* *Microsoft Office Excel 2016* (Microsoft Inc.), e os resultados submetidos ao teste de Duncan com nível de confiança de 95%, utilizando o *software* *Statística 10.0* (Statsoft™, Inc.). Os gráficos foram obtidos com auxílio do *software* *Origin 8.6* (Originlab Corporation).

Para as amostras desengorduradas com propano comprimido, a análise de variância foi utilizada para avaliar o efeito das variáveis independentes nas respostas utilizando um modelo matemático expresso pela **Eq. 9** (R_i = resposta, β_0 = constante, e β_1 , β_2 e β_{12} = termos da regressão; T se refere à temperatura, P se refere à pressão). As superfícies de resposta e os gráficos de Pareto foram obtidos com o *Statistica* 10.0.

$$R_i = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 P + \beta_{12} TP \quad (9)$$

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Rendimento

Os resultados para os três tipos de processos de desengorduramento estão exibidos na **Tabela 4.1**. Neste caso, quanto menor a porcentagem de farinha obtida, maior foi eficiência do processo de extração do óleo, pois menor também será o residual lipídico. Considerando-se um teor máximo de lipídios de 64% na sapucaia (CARVALHO *et al.*, 2008), o máximo de “eficiência” na extração resultaria em 36% de FDS. O processo clássico via Soxhlet (LS) utilizando éter de petróleo como solvente proporcionou uma remoção do conteúdo lipídico muito eficiente, resultando em uma quantidade de massa desengordurada de $41,16 \pm 0,31\%$. Em pesquisa anterior utilizando hexano como solvente na extração Soxhlet, resultou em 50,50% de farinha desengordurada, portanto, uma menor eficiência na extração com esse solvente (TEIXEIRA *et al.*, 2018).

As amostras submetidas aos processos via fluido subcrítico (propano comprimido) também tiveram alto teor de gordura removido, com quantidade de farinha resultante variando entre 54,22–57,51% (L1–L5). A amostra extraída com CO₂ supercrítico + etanol (LC) como co-solvente resultou em $66,68 \pm 0,50\%$ de farinha, sendo considerado o menos eficiente dos três métodos em remover conteúdo lipídico da farinha produzida.

4.3.2 Composição centesimal e análise de cor

Os resultados da composição centesimal da castanha (NS) e das farinhas desengorduradas de sapucaia (FDS) obtidas pelas três diferentes técnicas apresentaram diferenças significativas (**Tabela 4.2**). O conteúdo de umidade, proteína, lipídios totais, carboidratos, e cinzas da NS foi de 4,19%, 20,45%, 58,71%, 13,76%, e 2,89%, respectivamente, estando de acordo com as publicações existentes (CARVALHO *et al.*, 2012c; DEMOLINER *et al.*, 2018; DENADAI *et al.*, 2007), e muito similar à composição da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) (YANG, 2009). Como esperado, após a extração do conteúdo lipídico da NS, as proporções dos demais constituintes na FDS tendem a aumentar.

As amostras desengorduradas com propano subcrítico (L1–L5) apresentaram variação significativa na sua composição físico-química, resultante da diferença no teor lipídico removido em cada condição de extração (**Tabela 4.1**). Mesmo com uma grande eficiência na extração do conteúdo lipídico pelo propano comprimido (TEIXEIRA *et al.*, 2018), ainda encontrou-se uma quantidade significativa de gordura remanescente, variando entre 18,33% e 36,02 %. A umidade atingiu um máximo de 7,93%, enquanto teores de proteína, carboidratos e cinzas foram de no mínimo 31,89%, 23,79%, e 2,08%, respectivamente. Devido à alta eficiência na extração do conteúdo lipídico, a amostra LS apresentou o menor residual de gordura (~3%), e os teores de umidade, proteína, e cinzas foram os maiores dentre todas as FDS (**Tabela 4.2**).

Quanto maior o teor lipídico de uma amostra, maior tende a ser o valor energético, uma vez que 1 g de gordura é responsável por 9 kcal. Com a diminuição no teor lipídico, as amostras reduziram seu valor energético. Considerando o elevado conteúdo de gordura, a NS apresentou também um alto valor calórico, enquanto a amostra LS apresentou o menor valor energético entre todas as FDS. Para L1–L5 o valor calórico ficou entre 447,74–547,25 kcal/100 g. Os resultados aqui reportados para NS estão de acordo com os reportados na literatura (CARVALHO *et al.*, 2012c, 2008; DENADAI *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2008; VALLILO *et al.*, 1998). Elevado valor calórico também é comumente encontrado para castanha-do-Brasil, nozes, amêndoas, macadâmia, noz pecan e avelã (VENKATACHALAM; SATHE, 2006).

Tabela 4.1 Condições experimentais e resultados da extração de sapucaia com propano comprimido, CO₂ supercrítico + etanol como co-solvente, ou éter de petróleo

Corrida	Amostra	Método	Solvente	T (°C)	P (bar)	Tempo de extração (min)	Farinha resultante da extração ^c (%)	Óleo removido ^d (%)
1	L1	Extração por fluido subcrítico	Propano	20	20	60	57,51	42,49
2	L2		Propano	60	20	60	56,54	43,61
3	L3		Propano	20	100	60	57,52	42,35
4	L4		Propano	60	100	60	54,22	46,22
5	L5 ^a		Propano	40	60	60	55,17 ± 1,44 ^b	43,47 ± 0,72 ^b
6	LC	Extração por fluido supercrítico	CO ₂ + etanol (1:1 m/m)	60	200	60	66,68 ± 0,50 ^b	33,32 ± 0,50 ^b
7	LS		Éter de petróleo	Ponto de ebulição	–	360	41,16 ± 0,31 ^b	49,50 ± 0,51 ^b

a: ponto central. b: média ± desvio-padrão (n=3). c: estimada a partir de 100 menos a massa de óleo removido. d: massa de extrato obtido pela massa de material seco alimentado × 100. FONTE: O autor (2018).

Tabela 4.2 Composição centesimal e parâmetros de cor da sapucaia (NS) e suas farinhas desengorduradas

Parâmetro (%)	Amostra							
	NS	L1	L2	L3	L4	L5	LC	LS
Umidade	4,19 ± 0,01 ^g	6,12 ± 0,01 ^e	6,30 ± 0,01 ^e	6,63 ± 0,01 ^d	7,93 ± 0,01 ^b	7,00 ± 0,24 ^c	4,79 ± 0,01 ^f	11,50 ± 0,01 ^a
Proteína	20,45 ± 0,41 ^f	32,00 ± 0,69 ^d	31,89 ± 0,46 ^d	36,16 ± 0,87 ^b	36,05 ± 0,86 ^b	34,08 ± 0,26 ^c	28,95 ± 0,28 ^e	49,28 ± 0,54 ^a
Lipídios	58,71 ± 0,30 ^a	36,02 ± 0,02 ^c	31,41 ± 0,58 ^d	26,91 ± 0,13 ^e	18,33 ± 0,46 ^f	27,12 ± 0,17 ^e	46,39 ± 0,55 ^b	3,46 ± 0,06 ^e
Cinzas	2,89 ± 0,01 ^e	2,08 ± 0,01 ^h	2,37 ± 0,01 ^g	2,91 ± 0,00 ^d	3,04 ± 0,01 ^b	2,87 ± 0,02 ^f	2,93 ± 0,01 ^c	4,71 ± 0,02 ^a
Carboidratos	13,76 ± 0,70 ^f	23,79 ± 0,74 ^d	28,04 ± 0,11 ^c	27,40 ± 0,74 ^c	34,65 ± 1,32 ^a	29,93 ± 0,32 ^c	16,95 ± 0,83 ^e	31,05 ± 0,47 ^b
Valor Energético ¹	665,22 ± 1,49 ^a	547,25 ± 0,09 ^c	522,39 ± 2,93 ^d	496,41 ± 0,62 ^e	447,74 ± 2,30 ^f	496,12 ± 1,78 ^e	601,07 ± 2,75 ^b	352,44 ± 0,29 ^g
<i>L</i> * ²	60,27 ± 0,12 ^g	75,84 ± 0,00 ^e	76,40 ± 0,00 ^d	78,62 ± 0,28 ^b	77,74 ± 0,21 ^c	75,80 ± 0,09 ^e	72,54 ± 0,30 ^f	84,12 ± 0,12 ^a
<i>a</i> * ²	2,66 ± 0,42 ^a	1,50 ± 0,00 ^{bc}	1,30 ± 0,00 ^{cd}	1,00 ± 0,01 ^d	1,06 ± 0,01 ^d	1,67 ± 0,01 ^b	2,61 ± 0,01 ^a	0,21 ± 0,01 ^e
<i>b</i> * ²	55,84 ± 1,39 ^a	16,18 ± 0,71 ^c	15,71 ± 0,00 ^c	14,14 ± 0,09 ^d	14,25 ± 0,06 ^d	16,65 ± 0,03 ^c	21,31 ± 0,05 ^b	9,29 ± 0,00 ^e
<i>C</i> * ³	63,00 ± 3,65 ^a	18,43 ± 0,71 ^{cd}	17,40 ± 0,00 ^{cde}	15,13 ± 0,08 ^e	15,36 ± 0,04 ^{de}	19,44 ± 0,02 ^c	28,09 ± 0,09 ^b	9,33 ± 0,00 ^f
<i>h</i> ° ³	1,52 ± 0,01 ^b	1,48 ± 0,00 ^e	1,49 ± 0,00 ^d	1,50 ± 0,00 ^c	1,50 ± 0,00 ^c	1,47 ± 0,00 ^f	1,45 ± 0,00 ^g	1,55 ± 0,00 ^a

¹kcal/100 g; ²sistema de cor CIE L*a*b*; ³sistema CIE L*C*h. FONTE: O autor (2018).

A **Figura 4.1** ilustra a aparência das amostras da castanha e das farinhas desengorduradas utilizadas nesta pesquisa, logo após as extrações realizadas. A **Tabela 4.2** apresenta os parâmetros da análise instrumental de cor, conforme sistema CIELab.

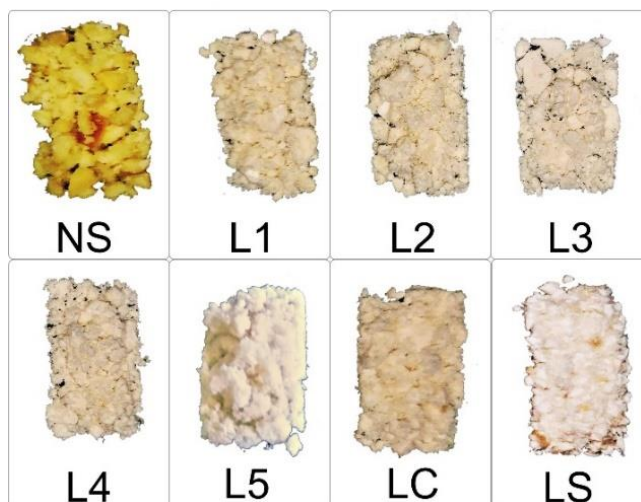


Figura 4.1 Amostras das castanhas de sapucaia trituradas nas formas *in natura* (NS), e desengorduradas com propano comprimido (L1 a L5), dióxido de carbono+etanol (LC), ou com éter de petróleo (LS). FONTE: O autor (2018).

Com exceção do ângulo h^* , todos os parâmetros de cor apresentaram alta correlação com conteúdo de óleo da sapucaia (TEIXEIRA *et al.*, 2017, 2018). De um modo geral, é possível verificar que a amostra da castanha *in natura* (NS) possui coloração muito mais amarelada que as farinhas. O parâmetro de cor L^* , referente à luminosidade, variou significativamente ($p < 0,05$) entre 60,27 e 84,12, indicando coloração com tonalidades claras. Conforme já mencionado, o elevado teor lipídico da NS torna a amostra mais escura, impactando em um menor valor de L^* , enquanto as FDS apresentam valores mais altos, sendo amostra LS considerada a mais “clara” entre todas. A correlação de L^* frente ao teor de gordura foi inversamente proporcional ($-0,92$). Tanto a castanha quanto as FDS apresentaram valores diferentes e positivos para o parâmetro a^* , indicativo de tons avermelhados ($<2,66$), e correlação de 0,94 com o teor lipídico.

O parâmetro b^* confirma as observações anteriores quanto a característica amarelada da noz, que apresentou valor de b^* até 6 vezes maior que das amostras de FDS, e 81% de correlação com a quantidade gordura nas amostras. Similarmente, o C^* , que representa a saturação, e o h (ângulo de tonalidade) também apresentaram variação significativa entre as amostras. Apresentando 0,84 de correlação com o conteúdo de óleo, os valores de C^* indicam que a amostra NS

é a mais distante do eixo de luminosidade, portanto a “mais escura”, enquanto a LS se destaca como a mais clara, estando de acordo com o descrito para o parâmetro L^* . Já o ângulo h ($1,45-1,55^\circ$) indicou que todas as amostras apresentam tonalidade próxima da cor vermelha (0°).

4.3.3 Efeito da extração subcrítica com propano comprimido nas características físico-químicas da FDS

Na **Figura 4.2** representam-se as superfícies de resposta obtidas usando o modelo linear (**Eq. 1**), juntamente com os gráficos de Pareto mostrando o efeito das variáveis independentes nos parâmetros da composição centesimal da farinha de sapucaia desengordurada com propano comprimido, obtidos a partir da análise ANOVA.

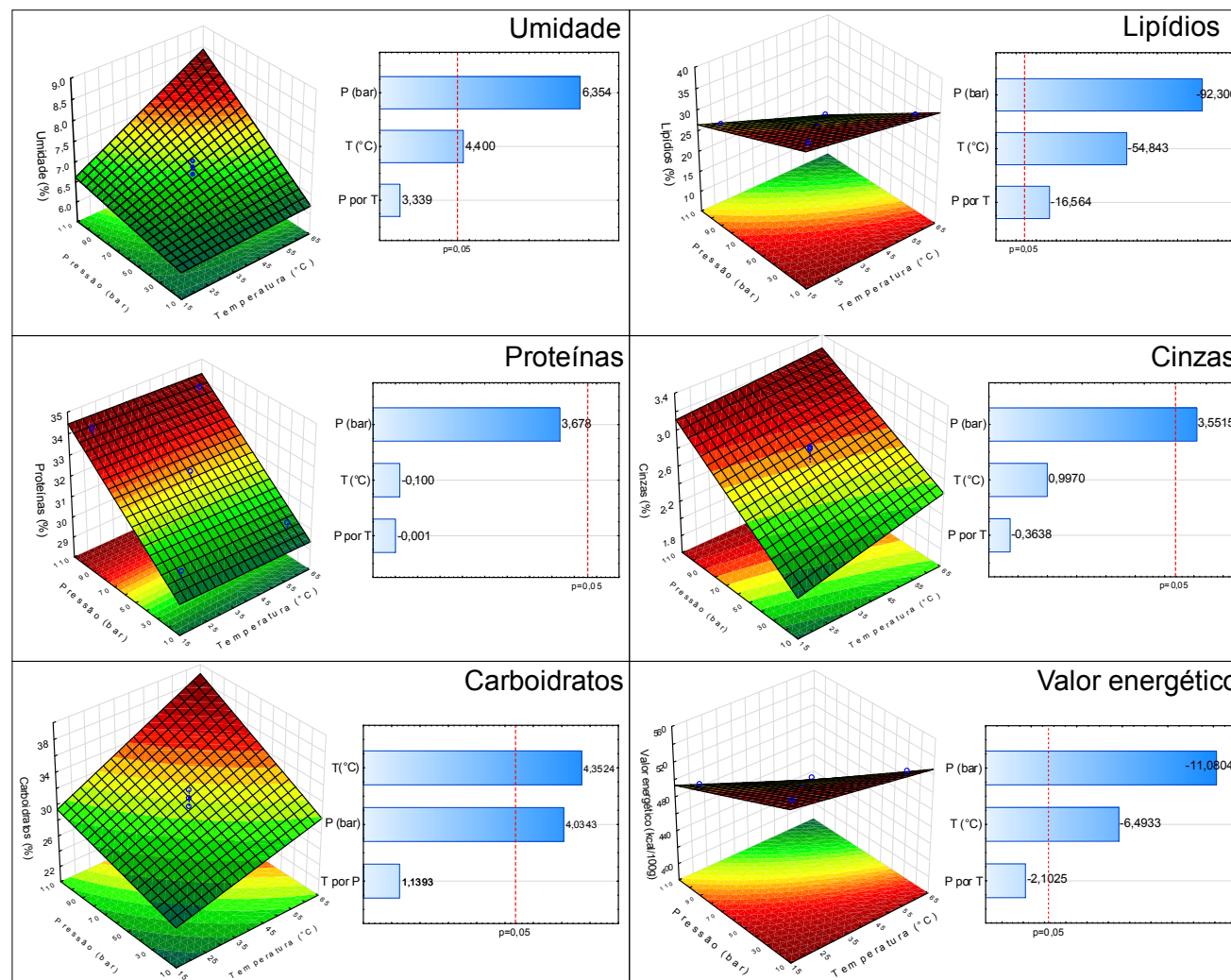


Figura 4.2 Superfícies de resposta representando o efeito das variáveis pressão (P) e temperatura (T) na composição centesimal da farinha de sapucaia desengordurada com propano comprimido FONTE: O autor (2018).

Na **Tabela 4.3** são apresentados a regressão linear e o coeficiente de determinação (R^2) de cada equação obtida a partir do modelo para cada variável dependente avaliada, enquanto a **Tabela 4.4** mostra os parâmetros da análise de variância.

Tabela 4.3 Efeito das variáveis temperatura e pressão sobre as respostas estudadas no desengorduramento de farinhas de sapucaia usando propano comprimido

Parâmetro	Fonte de Variação	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (2)	p
Umidade	Média	6,8540	0,0639	107,3408	0,0001*
	T	0,7433	0,1689	4,4001	0,0480*
	P	1,0735	0,1689	6,3544	0,0239*
	T.P	0,5642	0,1689	3,3395	0,0792
Lipídios	Média	27,7167	0,0454	610,1180	0,0000*
	T	-6,5917	0,1202	-54,8430	0,0003*
	P	-11,0938	0,1202	-92,3004	0,0001*
	T.P	-1,9908	0,1202	-16,5637	0,0036*
Proteínas	Média	31,9153	0,4058	78,6545	0,0002*
	T	-0,1075	1,0736	-0,1001	0,9294
	P	3,9485	1,0736	3,6779	0,0666
	T.P	-0,0013	1,0736	-0,0012	0,9991
Cinzas	Média	2,7184	0,0793	34,2816	0,0001*
	T	0,2092	0,2098	0,9970	0,3922
	P	0,7451	0,2098	3,5515	0,0380*
	T.P	-0,0763	0,2098	-0,3639	0,7401
Carboidratos	Média	30,7956	0,4990	61,7094	0,0000*
	T	5,7467	1,3203	4,3524	0,0224*
	P	5,3268	1,3203	4,0344	0,0274*
	T.P	1,5043	1,3203	1,1393	0,3373
Valor Energético	Média	500,2944	2,1402	233,7564	0,0000*
	T	-36,7686	5,6625	-6,4933	0,0074*
	P	-62,7435	5,6625	-11,0804	0,0016*
	T.P	-11,9055	5,6625	-2,1025	0,1263

T, Temperatura; P, Pressão. *Significativo ao nível de 95% de confiança. FONTE: O autor (2018).

Tabela 4.4 Análise de variância (ANOVA) para o modelo linear relativo à composição centesimal da farinha de sapucaia desengordurada usando propano comprimido

Parâmetro	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p	R ²
Umidade	T	0,553	1	0,553	19,361	0,048*	0,922
	P	1,152	1	1,152	40,379	0,024*	
	T.P	0,318	1	0,318	11,152	0,079	
	Falta de ajuste	0,113	1	0,113	3,964	0,185	
	Erro puro	0,057	2	0,029	–	–	
	Total	2,193	6	–	–	–	
Lipídios	T	43,451	1	43,451	3007,751	0,0003*	0,989
	P	123,073	1	123,073	8519,370	0,0001*	
	T.P	3,963	1	3,963	274,357	0,0036*	
	Falta de ajuste	1,868	1	1,868	129,330	0,0076*	
	Erro puro	0,029	2	0,014	–	–	
	Total	172,384	6	–	–	–	
Proteínas	T	0,012	1	0,012	0,010	0,929	0,815
	P	15,590	1	15,590	13,527	0,067	
	T.P	0,000	1	0,000	0,000	0,999	
	Falta de ajuste	1,232	1	1,232	1,069	0,410	
	Erro puro	2,305	2	1,153	–	–	
	Total	19,138	6	–	–	–	
Cinzas	T	0,044	1	0,044	910,287	0,001*	0,821
	P	0,555	1	0,555	11550,640	0,000*	
	T.P	0,006	1	0,006	121,249	0,008*	
	Falta de ajuste	0,132	1	0,132	2745,248	0,000*	
	Erro puro	0,000	2	0,000	–	–	
	Total	0,737	6	–	–	–	
Carboidratos	T	33,024	1	33,024	31,874	0,030*	0,924
	P	28,374	1	28,374	27,387	0,035*	
	T.P	2,263	1	2,263	2,184	0,278	
	Falta de ajuste	3,158	1	3,158	3,048	0,223	
	Erro puro	2,072	2	1,036	–	–	
	Total	68,892	6	–	–	–	
Valor energético	T	1351,933	1	1351,933	794,519	0,001*	0,983
	P	3936,744	1	3936,744	2313,589	0,000*	
	T.P	141,740	1	141,740	83,299	0,012*	
	Falta de ajuste	92,790	1	92,790	54,532	0,018*	
	Erro puro	3,403	2	1,702	–	–	
	Total	5526,610	6	–	–	–	

T, Temperatura; P, Pressão. *Significativo ao nível de 95% de confiança. FONTE: O autor (2018).

Conforme os parâmetros de regressão (**Tabela 4.3**), as variáveis temperatura (T) e pressão (P) apresentaram efeito significativo para umidade, lipídios, carboidratos e valor energético. A pressão foi significativa para cinzas, enquanto que a interação $T.P$ só foi significativa para o teor lipídico; em outras palavras, quanto maior a P e T , menor será o residual de óleo nas farinhas, devido à grande eficiência do propano na extração de material lipídico (PEREIRA *et al.*, 2017; TEIXEIRA *et al.*, 2018; TRENTINI *et al.*, 2017). Entretanto, há que se destacar que apesar de 98,9% e 98,3% dos dados experimentais serem adequadamente ajustados pela **Eq. 9** para lipídios e valor energético, respectivamente, a falta de ajuste do modelo (**Tabela 4.4**) foi significativa ($p < 0,05$), mostrando então que o modelo proposto não é válido para prever o comportamento das variáveis em questão nas FDS utilizando propano comprimido nas condições avaliadas. Por outro lado, os parâmetros da regressão mostraram efeito positivo e significativo para a umidade, e a falta de ajuste não foi significativa (ao nível de 95%), com 92,2% dos dados experimentais adequadamente ajustados ao modelo proposto. Levando-se em consideração apenas as variáveis significativas (**Tabela 4.4**) o modelo matemático para umidade pode ser descrito como $R_i = 6,8540 + 0,7433T + 1,0735P$.

É importante ressaltar que, mesmo os modelos não sendo eficazes na predição do comportamento das respostas, os resultados obtidos são relevantes, pois mostram que, de um modo global, as variáveis P e T não alteram de modo significativo as características físico-químicas da farinha parcialmente desengordurada de sapucaia. Do ponto de vista nutricional, isso é bom porque a variação de T e P aplicadas na extração com propano pouco afetará a qualidade da amostra final, sugerindo que a castanha de sapucaia possa ser exposta a ambientes com elevado gradiente de P e T sem grandes prejuízos nutricionais ao produto final, como ocorre na fabricação de produtos que precisam ser assados como os de panificação.

4.3.4 Morfologia da castanha e das farinhas de sapucaia

A morfologia da amostra integral (NS), bem como os efeitos dos tratamentos de desengorduramento na microestrutura da FDS, são exibidos nas micrografias eletrônicas de varredura (MEV) da **Figura 4.3**, e o diâmetro médio das partículas

de cada farinha são apresentados na **Tabela 4.5**. Através da MEV é possível observar que a NS é composta principalmente de estruturas globulares, possivelmente corpos lipídicos e proteicos incorporadas em tecidos escamosos que formam paredes celulares, muito similares aos tecidos parenquimáticos exibidos pela castanha do Brasil, conforme elucidado por Scussel *et al.* (2014), que mostra também que os tecidos com paredes finas e formato irregular compõem a maior parte do tecido comestível das castanhas. Estruturas com morfologia irregular também podem ser fibras, uma vez que a sapucaia é fonte desse carboidrato (CARVALHO *et al.*, 2008).

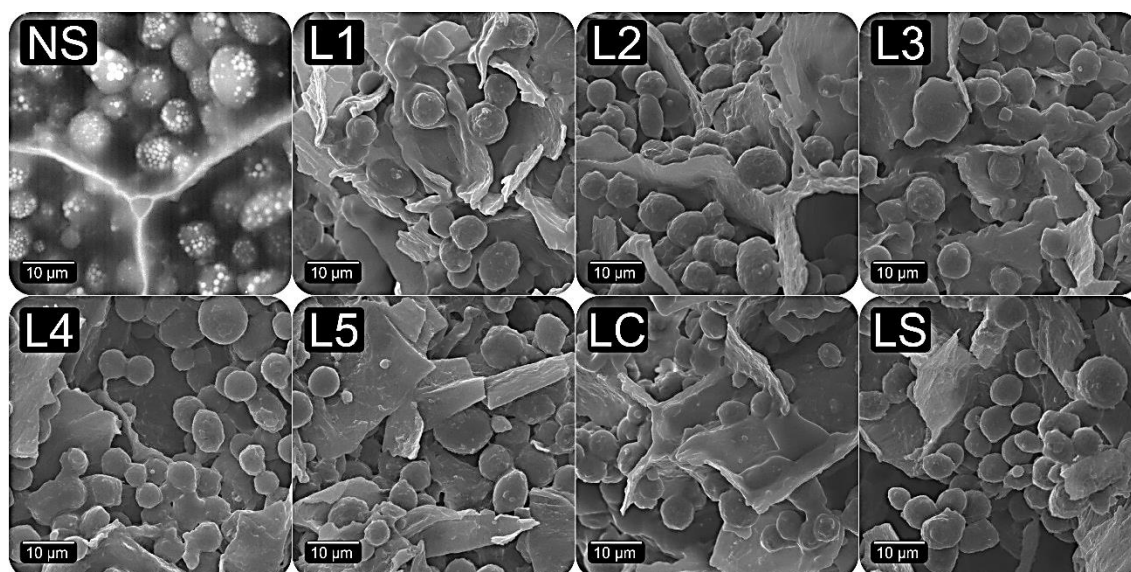


Figura 4.3 Micrografias eletrônicas dos grânulos da castanha de sapucaia in natura (NS), e desidregordurada com propano comprimido (L1 a L5), dióxido de carbono+etanol (LC), ou com éter de petróleo (LS). A barra representa 10 µm. FONTE: O autor (2018).

Em razão da perda de resolução e detalhes após cobrir a amostra NS com ouro, procedeu-se a sua avaliação sem a cobertura metálica e sem vácuo; por este motivo, observa-se a existência gotículas sobre as estruturas de formato cilíndrico (pontos brancos), que podem ser de água. A amostra LC apresentou estrutura dos tecidos parenquimáticos menos danificada, tendo em vista uma menor efetividade na remoção de gordura pelo CO_2 +etanol (**Tabela 4.1**), enquanto as demais FDS apresentaram níveis de irregularidades similares. Verificou-se uma variação significativa no diâmetro médio das partículas de FDS, com valores entre 20,11 µm a 33,56 µm. O menor tamanho de partículas também foi observado para a amostra LC. Martínez *et al.* (2011) explicam que pressão e temperatura são os maiores

fatores que influenciam o tamanho de partículas no desengorduramento, uma vez que podem provocar tanto a redução de tamanho por conta da liberação dos glóbulos de gordura, quanto o inchamento dos grânulos sob condições extremas. Como consequência, o diâmetro da partícula dessas farinhas influencia suas propriedades funcionais (ZHANG *et al.*, 2014).

Tabela 4.5 Resultados de DRX e MEV para a sapucaia *in natura* (NS), e suas farinhas desengorduradas

Amostra	DRX		MEV
	Grau de cristalinidade relativa (%)	Região amorfa (%)	Diâmetro médio de partículas (µm)
NS	62,10	37,90	33,56 ± 2,81 ^a
L1	54,00	46,00	28,66 ± 1,83 ^{ab}
L2	52,70	47,30	32,63 ± 3,82 ^a
L3	49,10	50,90	25,44 ± 4,15 ^{bc}
L4	50,20	49,80	25,07 ± 0,54 ^{bc}
L5	52,25	47,75	23,17 ± 1,88 ^{bc}
LC	58,70	41,30	20,11 ± 1,50 ^c
LS	32,80	67,20	24,54 ± 2,59 ^{bc}

Letras minúsculas indicam diferença estatística conforme teste de Duncan ($p < 0,05$). FONTE: O autor (2018).

O estudo de MEV comprova que a energia cinética dos processos de extração com fluidos sub- e supercríticos podem quebrar a estrutura celular da sapucaia, facilitando a liberação do óleo (PEREIRA *et al.*, 2017; TEIXEIRA *et al.*, 2018), diminuindo assim o conteúdo lipídico residual. Conforme observado nas micrografias há estruturas esféricas e outras côncavo-convexas; devido ao alto conteúdo de carboidratos presente na FDS (**Tabela 4.2**). Sugere-se que parte destas seja composta de amido, cujos grânulos possuem os formatos característicos citados, similares aos reportados por Ling *et al.* (2016) para farinha desengordurada de pistache. Os valores para a cristalinidade (**Tabela 4.5**) das amostras desengorduradas foram menores do que a amostra *in natura* (NS), indicando que o percentual de gordura impacta diretamente nesta característica. Quando menor o nível de gordura residual, menor o grau de cristalinidade relativa da FDS. A remoção de amido e hemicelulose em amostras com baixo grau de cristalinidade pode aumentar o percentual da região cristalina, uma vez que estes constituintes compõem grande parte da região amorfa (QI *et al.*, 2015).

A **Figura 4.4** mostra os difratogramas com padrões de raio-X das FDS comparados com o da castanha de sapucaia *in natura*. É perceptível a diferença na

intensidade dos picos da castanha e das farinhas. Tanto a NS quanto as amostras de FDS apresentaram dois picos característicos fortes próximo de 9° e 19° , similar ao perfil de proteínas isoladas de soja (ZHANG *et al.*, 2014) e de linhaça (KAUSHIK *et al.*, 2016). A falta de cristalinidade, ou disposição ordenada na estrutura das proteínas do material extraído pode ser revelada pela baixa intensidade do pico a 19° (KAUSHIK *et al.*, 2016), o que se confirma na **Tabela 4.5**, onde a amostra com menor grau de cristalinidade é a LS, provando que o tratamento aplicado com éter de petróleo possui grande efeito na natureza amorfa da FDS. A amostra L4, apresentou a maior redução na intensidade do pico a 19° , sugerindo que a estrutura cristalina da FDS entrou em colapso após o tratamento com propano comprimido. A extensão do dano estrutural tornou-se mais forte quando maiores pressão e temperatura foram aplicadas (L3 e L4). Além disso, o grau de cristalinidade das amostras foi altamente correlacionado (0,93) com o conteúdo de gordura.

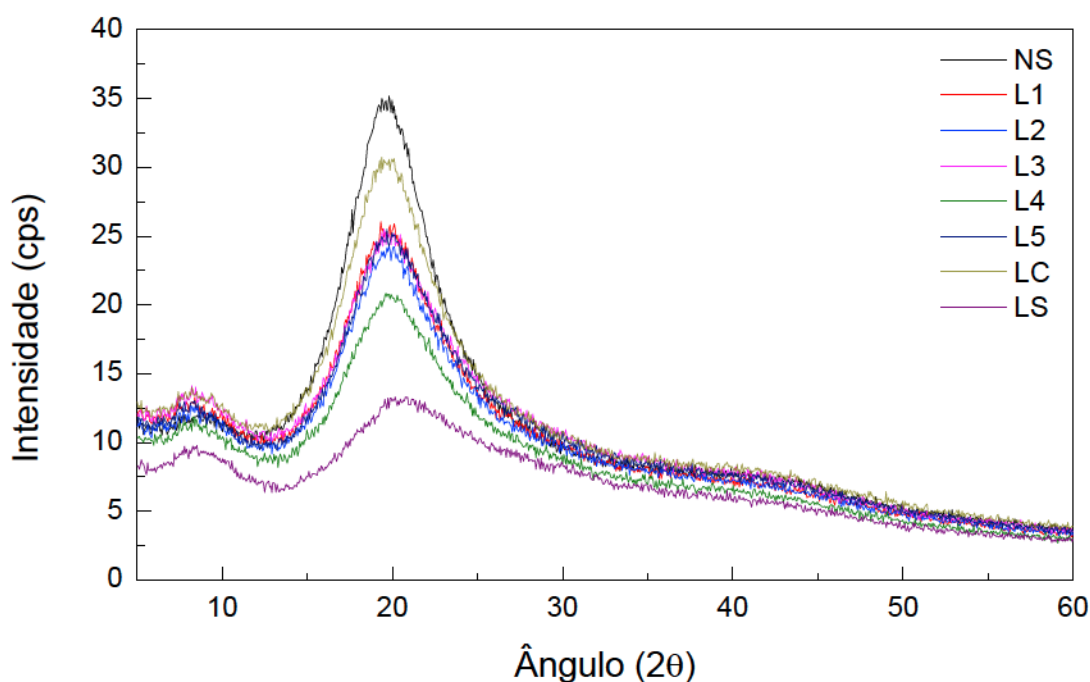


Figura 4.4 Difratograma exibindo o perfil de raios-X da castanha de sapucaia in natura (NS), e desengordurada por meio de diferentes processos de extração. FONTE: O autor (2018).

4.3.5 Espectro DRIFTS

A espectroscopia por refletância difusa com transformada de Fourier (DRIFTS) é principalmente aplicada para observações em amostras sólidas, como

é o caso das FDS em pó aqui estudadas. A **Figura 4.5** representa o espectro de absorbância DRIFTS das amostras de castanha de sapucaia (NS) e das FDS avaliadas na região de 4000 a 500 cm^{-1} .

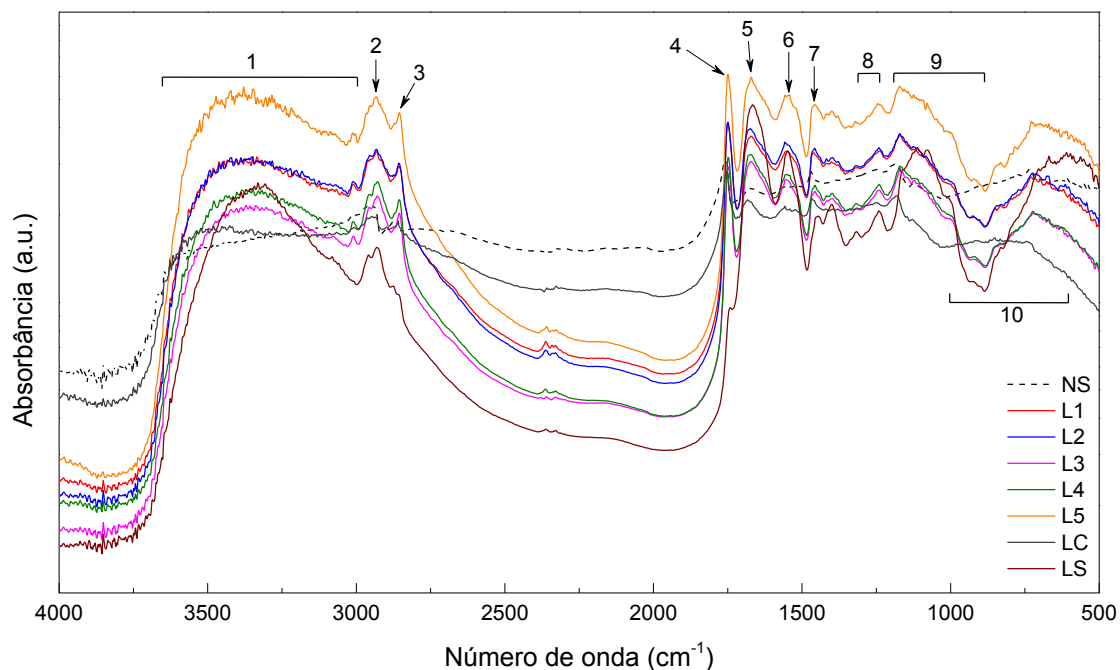


Figura 4.5 Espectro DRIFTS da castanha de sapucaia e das farinhas desengorduradas na região de 4000–500 cm^{-1} . FONTE: O autor (2018).

A análise permite identificar os grupos funcionais e estruturas que fazem parte da matriz baseados nos valores dos picos no infravermelho. Portanto, o espectro FT-IR reflete diretamente a composição química das amostras, incluindo constituintes como a água, proteínas, lipídios e carboidratos. Verificou-se que as amostras NS e LC, que possuem o maior teor lipídico, também apresentam aqui um perfil similar, exibindo baixa intensidade na absorção do espectro IR, com pouca definição dos picos referentes aos grupos funcionais. Por outro lado, todas as demais amostras que obtiveram um maior percentual de remoção de gordura exibiram picos bem definidos, com padrão do espectro de IR semelhante entre si.

Os principais picos de absorção entre 3700 e 3000 cm^{-1} (banda 1) são atribuídos à vibração de estiramento de hidroxila livre (alongamento O-H), e também de N-H (CHEN *et al.*, 2013; ZHONG *et al.*, 2017), e podem ser associados à umidade residual nas amostras (BELCHIOR; FRANCA; OLIVEIRA, 2016; ZHANG *et al.*, 2014). A banda a 2933 cm^{-1} (banda 2) corresponde à vibração de estiramento assimétrico de C-H₂ (CHEN *et al.*, 2013). A banda 3 em 2854 cm^{-1} foi atribuída ao alongamento das ligações C-H do grupo metila (-CH₃) de ácidos graxos

(BELCHIOR; FRANCA; OLIVEIRA, 2016; NAUMANN, 2000). Nas bandas 4 (1749 cm^{-1}) e 5 (1672 cm^{-1}) têm-se os grupos funcionais C=O de ésteres, e das folhas β -pregueadas de proteínas, respectivamente.

Também foram registradas bandas em 1670 cm^{-1} (amida I, estiramento C–O). A banda 6 (1548 cm^{-1} , ligação N–H) é a banda de amida II, enquanto a banda 7 (1458 cm^{-1}) é atribuída a vibrações C–H do glicerol (NAUMANN, 2000). As bandas de absorção próximas de 1402 cm^{-1} e 1240 cm^{-1} são atribuídas à ligação N–H (amida III, estiramento C–N) (ZHENG *et al.*, 2017) e as bandas subsequentes (abaixo de 1100 cm^{-1}) são a impressão digital dos metil-ésteres de ácidos graxos de cadeia longa presentes na fração lipídica das amostras (ZHANG *et al.*, 2013). A região 8 (bandas entre $1310\text{--}1240$) é relacionada aos componentes da banda de amida III de proteínas, enquanto a região 9 ($1200\text{--}900\text{ cm}^{-1}$) têm-se vibrações de anéis de polissacarídeos com C–O–C, C–O, C–O–P, P–O–P. A faixa 10, por sua vez é associada à região de impressão digital (*fingerprint*) da amostra (NAUMANN, 2000).

Com a remoção de óleo das amostras, a intensidade das bandas sofreu alteração, indicando que a quantidade de grupos funcionais é afetada pelos processos de desengorduramento aqui aplicados. Essas diferenças entre os espectros FT–IR da NS e das FDS confirmam que o método de extração causou alterações nos seus perfis químicos. Os resultados também sugerem que a composição das farinhas desengorduradas pode afetar a posição exata das bandas, além de influenciar as mudanças no espectro de IR. A análise de FT–IR confirma que a amostra LS foi a que sofreu maiores danos estruturais, pois seu espectro apresentou a maior variação nas bandas de absorção no IR. Perfis FTIR similares aos da NS e FDS foram reportados para farinha desengordurada de soja (CHEN *et al.*, 2015; ZHENG *et al.*, 2017), farelo de arroz desengordurado (QI *et al.*, 2015), torta de colza (*Brassica napus*) (SHI *et al.*, 2016), e biofilmes de isolado proteico de amendoim (ZHONG *et al.*, 2017).

4.3.6 Estabilidade térmica

A **Figura 4.6** mostra os resultados da análise termogravimétrica (TG) e derivada termogravimétrica (DTG) representando a perda de massa *versus* temperatura para a castanha *in natura* de sapucaia e cada amostra de FDS.

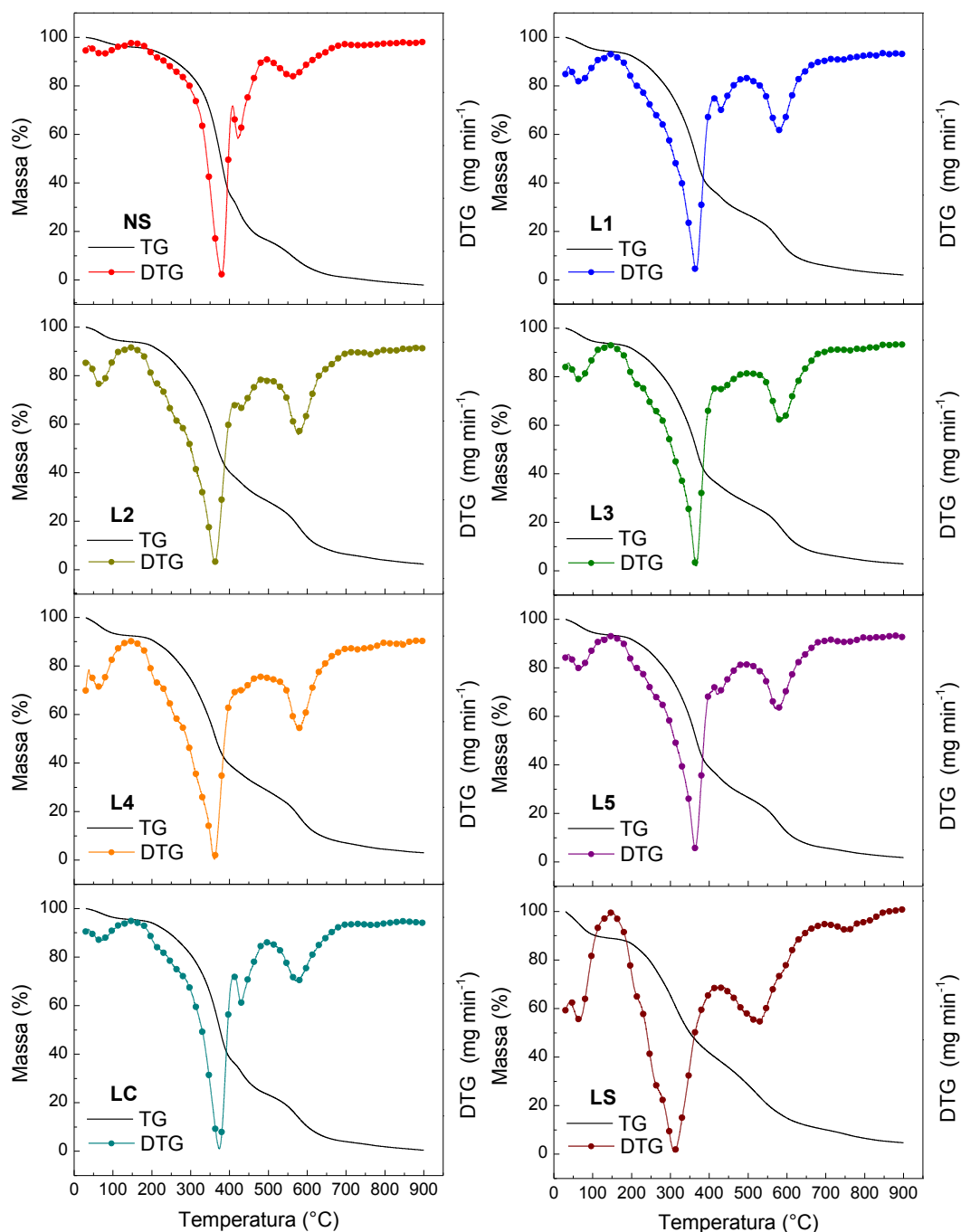


Figura 4.6 Termogramas exibindo o perfil de perda de massa *versus* derivada termogravimétrica da castanha de sapucaia *in natura*, e desengordurada. FONTE: O autor (2018).

A **Figura 4.7** compara todas as amostras através da sobreposição das curvas TG (**a**) e DTG (**b**), evidenciando o impacto dos tratamentos utilizados no perfil térmico das FDS. Observa-se que o propano subcrítico em diferentes condições pouco afetou a estabilidade térmica das FDS, cujas curvas TG/DTG são muito similares entre si, enquanto a amostra LS apresenta um perfil TG e DTG muito mais diferenciado das demais farinhas. A **Tabela 4.6** evidencia com maiores detalhes estas diferenças. As curvas DTG revelaram a existência de 4 picos de

perda de massa (Δm) bem definidos para as amostras NS, L1, L2, e LC, enquanto as demais apresentaram apenas 3 picos, porém todas compreenderam um total de 3 eventos térmicos.

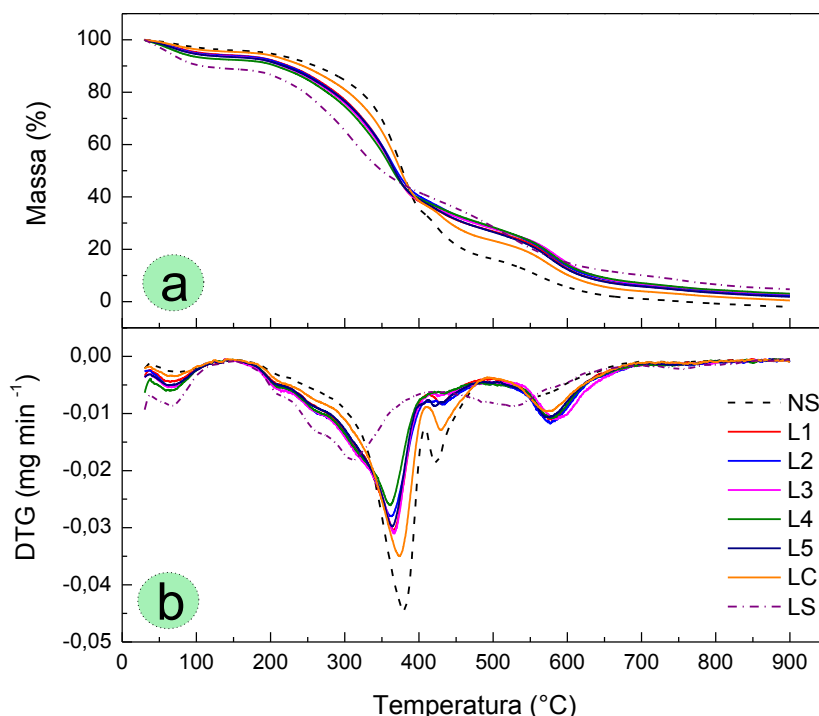


Figura 4.7 Comparação entre a perda de massa (a) e da derivada termogravimétrica (b) da castanha de sapucaia *in natura* e desengordurada. FONTE: O autor (2018).

O primeiro evento, relacionado à perda de umidade e compostos voláteis compreendeu um ΔT de 3--113 °C para a amostra *in natura* (NS), com uma perda de massa $\Delta m < 4\%$, enquanto as FDS apresentaram um ΔT menor, variando entre 100–118 °C, mas uma perda de massa maior (Δm entre 4,25% e 9,98%). Esse evento indicou um maior Δm para LS, que revelou ainda um ganho de umidade ao início da análise.

O segundo evento, relativo à degradação térmica dos carboidratos e proteínas nas amostras ocorreu entre 179–480 °C, com pico em 374 e 406 °C, e um Δm de 77,75% para a NS. Nas amostras de FDS extraídas com propano comprimido o terceiro evento ocorreu entre 474–798 °C, com um Δm variando entre 22,30–26,03 %, enquanto que as amostras LC e LS tiveram ΔT entre 414–701 °C, e Δm de 19,70%, e 29,18%, respectivamente.

Tabela 4.6 Resultados das análises termogravimétrica (TG) e derivada termogravimétrica (DTG) da sapucaia *in natura* (NS), e suas farinhas desengorduradas analisadas sob atmosfera de ar sintético

Amostra	TG		DTG	
	Estágio de degradação térmica	Δm (%)	ΔT (°C)	T_p (°C)
NS	1	3,51	30-113	66,17 endo
	Estabilidade	-	113-179	-
	2	77,75	179-480	374,68 endo 406,30 exo
	3	16,23	480-690	559,50 endo
L1	1	5,49	30-117	54,61 endo
	Estabilidade	-	117-148	-
	2	66,83	148-485	361,66 endo 409,22 exo
	3	22,30	485-714	578,86 endo
L2	1	5,73	30-118	55,05 endo
	Estabilidade	-	118-150	-
	2	64,22	150-482	358,54 endo
	3	25,38	482-797	577,14 endo
L3	1	5,72	30-117	51,55 endo
	Estabilidade	-	117-155	-
	2	64,05	155-481	354,99 endo
	3	23,27	481-707	578,82 endo
L4	1	7,28	30-117	27,91 endo
	Estabilidade	-	117-158	-
	2	61,88	158-474	353,55 endo
	3	26,03	474-798	578,89 endo
L5	1	6,171	30-117	60,03 endo
	Estabilidade	-	117-159	-
	2	64,99	159-483	362,92 endo
	3	23,04	483-734	575,60 endo
LC	1	4,255	30-114	64,47 endo
	Estabilidade	-	114-160	-
	2	71,39	160-492	365,93 endo 408,94 exo
	3	19,70	492-701	574,32 endo
LS	1	9,98	30-100	63,30 endo
	Estabilidade	-	100-158	-
	2	48,67	158-414	305,33 endo
	3	29,18	414-687	528,00 endo

Δm = perda de massa; ΔT = faixa de temperatura; T_p = temperatura de pico. FONTE: O autor (2018).

O segundo evento também é atribuído à clivagem da ligação covalente entre as ligações peptídicas de resíduos de aminoácidos (ZHANG *et al.*, 2017). Os terceiro e quarto picos (3º evento), podem estar relacionados à decomposição típica de proteínas e à oxidação de proteínas parcialmente decompostas (KASPCHAK *et al.*, 2017), ou mesmo devido à clivagem das ligações S–S, O–N e O–O das moléculas de proteína nas amostras (ZHANG *et al.*, 2017).

Conforme apresentado na **Figura 4.7**, fica evidente a semelhança na perda de massa das amostras desengorduradas com propano comprimido e a diferença entre as demais amostras; a LS possui um Δm distintivamente menor que os demais, basicamente devido ao seu menor residual lipídico, o que a tornou menos termicamente estável. A FDS mostrou resistência à decomposição térmica superior à de farinha de soja (ZHANG *et al.*, 2017), e similar à da farinha de baru (GUIMARÃES *et al.*, 2012b), e à proteína isolada de quinoa (KASPCHAK *et al.*, 2017).

4.3.7 Propriedades funcionais da FDS

Através das análises estatísticas e aplicação do modelo matemático proposto pela **Eq. 9**, verificou-se que no caso das amostras L1–L5, nenhuma das variáveis avaliadas (P e T) teve influência significativa ($p < 0,05$) nas propriedades funcionais das FDS. Deste modo, avaliou-se as propriedades funcionais da FDS através da análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Duncan.

4.3.7.1 Espectro ultravioleta

Levando-se em consideração o elevado teor de proteínas na FDS, e sabendo-se que a maioria das proteínas exibe uma absorção ultravioleta (UV) característica a 280 nm devido a presença de aminoácidos aromáticos (MOORE *et al.*, 2010), os quais participam na formação das emulsões por sua característica anfifílica, procedeu-se uma varredura nos comprimentos de onda entre 190 a 400 nm a fim de autenticar a presença destes compostos na solução utilizada na produção das emulsões aqui avaliadas. Os espectros de absorção UV das amostras de FDS são apresentados na **Figura 4.8**.

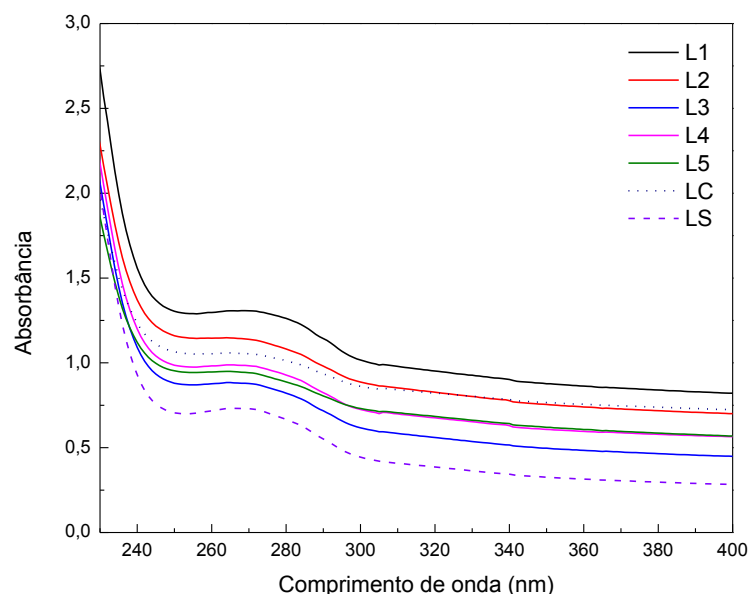


Figura 4.8 Espectro UV-Vis de soluções a 1 mg/mL de farinhas de sapucaia desengorduradas, na faixa de comprimento de onda entre 220 e 400 nm. FONTE: O autor (2018).

O pico de absorção máxima foi observado em 264 nm (L2 e L5), 265 nm (L3, L4, LC e LS) e 269 nm (L1), e a intensidade exibiu diferença significativa entre todos os tratamentos aplicados, sendo a amostra desengordurada por Soxhlet a mais afetada (menor intensidade). As amostras LC e LS apresentaram intensidade de absorção de 1,059 e 0,732, respectivamente. A intensidade da absorção das amostras tratadas com propano comprimido foi de 1,308 (L1), 1,148 (L2), 0,884 (L3), 0,988 (L4), e 0,950 (L5), com desvios-padrão $\leq 0,001$. Apesar da diferença significativa na intensidade da absorção UV das amostras, a análise ANOVA revelou que a influência das variáveis P e T neste parâmetro não é significativa ($p > 0,05$), porém amostras tratadas a menores pressões tenderam a exibir maior intensidade de absorção. Proteína de soja tratada com água subcrítica apresenta mudanças significativas nos seus perfis UV, provocadas principalmente pelo aumento da temperatura, que pode causar mudanças conformacionais nas moléculas da proteína. Além disso, o aumento na intensidade de absorção também pode ser causado por conta da exposição gradual dos grupos hidrofóbicos devido ao tratamento a alta pressão (ZHANG *et al.*, 2014).

4.3.7.2 Turbidez das soluções

A **Figura 4.9a** apresenta a turbidez das suspensões de sapucaia, e revela que há diferença entre as amostras, sendo que LS, L3 e L5 exibem maior turbidez

que as demais. Hua *et al.* (2005) explica que a presença de lipídios residuais em farinha de soja desengordurada os quais não são extraídos por completo pelos solventes causam problemas nas propriedades funcionais das proteínas, sendo a turbidez uma forma de verificação deste defeito.

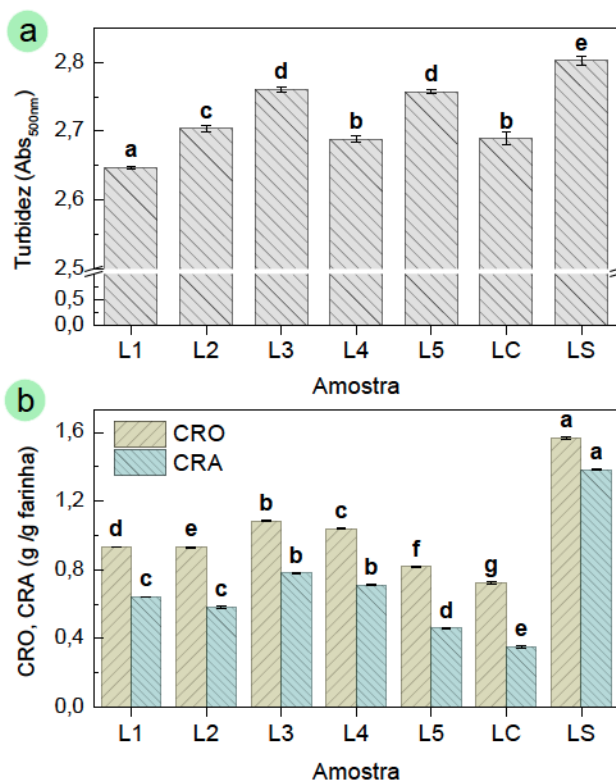


Figura 4.9 (a) Turbidez de soluções a 1% (m/v) de farinha de sapucaia desengordurada medida a 500 nm em espectrofotômetro, e (b) capacidade de retenção de óleo (CRO) ou água (CRA). A barra de erro indica o desvio-padrão da média de três replicatas. Letras minúsculas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). FONTE: O autor (2018).

Este pode ser um dos fatores pelos quais houve diferenças significativas na turbidez das soluções contendo FDS. Pigmentos e outros compostos responsáveis pela coloração amarelada da sapucaia também podem ser outro fator impactante na variação desse parâmetro.

4.3.7.3 Capacidade de retenção de água ou óleo

Algumas das consequências principais da retenção de água/óleo da farinha são a redução na perda de umidade e gordura, além da melhora no sabor e sensação na boca dos produtos alimentícios, por conta da habilidade da farinha em ligar-se à estrutura da água/óleo (LING *et al.*, 2016). As capacidades de retenção de óleo (CRO) e de água (CRA) da FDS variaram de 0,72 a 1,57, e de 0,35 a 1,38,

respectivamente (**Figura 4.9b**). Foi observado um maior nível de absorção tanto de água, quanto de óleo na amostra LS, e isso ocorreu porque esta amostra possuía o menor teor de gordura residual, permitindo a exposição de grande número de partes hidrofílicas e hidrofóbicas ligadas a mais unidades de água e óleo. Os menores valores foram observados para a amostra LC, cujo residual de gordura foi o maior entre as amostras estudadas. O mesmo efeito foi observado para farinhas de pistache (LING *et al.*, 2016) e canola (KHATTAB; ARNTFIELD, 2009), onde amostras expostas à altas temperaturas apresentaram maiores CRO e CRA, provavelmente devido à difusão de calor e desnaturação de proteínas que expõem sítios de ligação adicionais disponíveis para água e óleo.

4.3.7.4 Propriedades de espuma da FDS

Similarmente às capacidades de absorção de água/óleo, a capacidade de espuma (CE) e sua estabilidade (EE) também apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre algumas das amostras de FDS avaliadas. Na **Figura 4.10a** é possível verificar que a solução contendo 1% de FDS produz pouca espuma, atingindo um valor máximo de 12% (LS), com estabilidade variando entre 53% e 83%, sendo a amostra LC a menos estável. Esses baixos valores de CE e EE podem ser devido tanto ao teor de gordura residual (3–46%), quanto à alta interação proteína–proteína, levando à formação de agregados prejudiciais à formação de espuma e à diminuição da solubilidade do nitrogênio devido à desnaturação térmica causada pelos processos aplicados (LING *et al.*, 2016).

Isolados proteicos de farinha desengordurada de caju possuem maior CE que a FDS (45%), porém apresentam menor EE (55%) (OGUNWOLU *et al.*, 2009); farinha desengordurada de avelã, por sua vez possui uma CE de 400%, com EE de 45% (TURAN; CAPANOGLU; ALTAY, 2015). Fatores como o pH e o tipo de proteína presente na farinha usada na produção da solução também influenciam na CE e EE, pois se a proteína apresenta baixa solubilidade em um ponto isoelétrico, estarão envolvidas na formação de espuma apenas as frações de proteína solúvel, e uma vez que a concentração dessas frações solúveis é muito baixa, a quantidade de formação de espuma será menor (OGUNWOLU *et al.*, 2009).

4.3.7.5 Propriedades emulsificantes da FDS

O efeito dos processos de desengorduramento por fluidos sub- e supercrítico e com éter de petróleo nas propriedades emulsificantes da FDS é mostrado na **Figura 4.10b**.

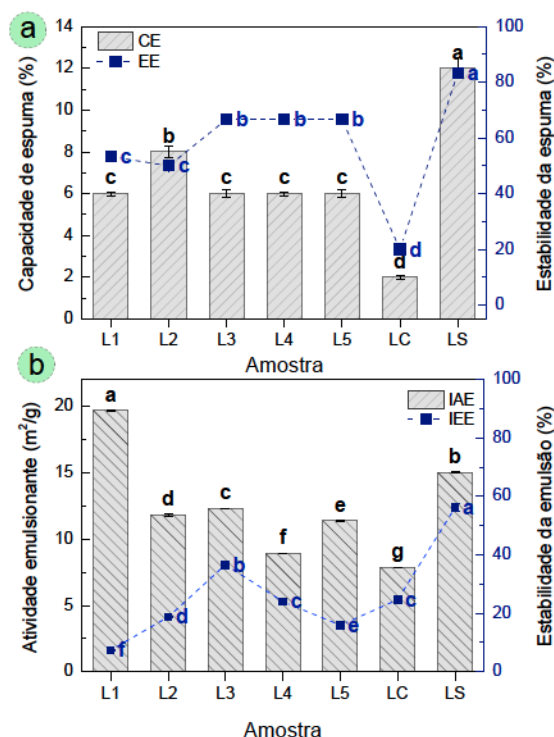


Figura 4.10 (a) Capacidade (CE) e estabilidade da espuma (EE), e (b) índices de atividade emulsionante (IAE) e de estabilidade da emulsão (IEE) das farinhas de sapucaia desengorduradas. A barra de erro indica o desvio-padrão da média de três replicatas. Letras minúsculas indicam diferença estatística ($p < 0,05$). FONTE: O autor (2018).

A capacidade de emulsificação (C_{emul}) e a estabilidade (E_{emul}) são propriedades funcionais importantes das proteínas alimentares. Fatores como tipo de proteína, concentração, pH, força iônica e viscosidade do sistema afetam a C_{emul} e a E_{emul} . Quando se trata de emulsões do tipo proteína-gordura-água vários são os fatores químicos e físicos que estão envolvidos na formação, estabilidade e propriedades de textura (KHATTAB; ARNTFIELD, 2009). De acordo com os resultados obtidos, todas as amostras apresentaram atividade emulsionante (IAE) e estabilidade da emulsão (IEE). Os tratamentos aplicados impactaram significativamente nas características avaliadas. O método espectrofotométrico utilizado mostrou que a farinha L1 possui maior IAE, alcançando 20 m²/g, porém, baixa estabilidade (7%), enquanto a amostra LS seria a mais estável, atingindo cerca de 56% IEE. Isto indica que a extração com éter de petróleo via Soxhlet

proporciona uma farinha com poder emulsificante mais duradouro que as demais. As outras FDS tiveram IEE entre 7–24%, uma variação de 2 a 8 vezes a estabilidade obtida pela amostra LS.

4.3.7.6 Separação de fases, microestrutura e distribuição de tamanho de gotas das emulsões de FDS

A fim de confrontar os resultados colorimétricos de estabilidade das emulsões, foi realizado teste de estabilidade por separação de fases, durante 120 min. A **Tabela 4.7** apresenta os dados de separação de fases das emulsões preparadas com óleo de soja e 1% (m/v) de solução de FDS, enquanto a **Figura 4.11** exemplifica graficamente a tendência à estabilidade no processo de separação quase linear após 30 minutos de descanso. Verifica-se que ao final do experimento, as amostras LS, L5 e L1 apresentaram o menor volume de fase separado, sem diferença ($p < 0,05$) entre as três. Por outro lado, as amostras L2, L3 e LC foram igualmente menos estáveis, pois o resultado final da separação de fases foi quase o dobro das demais. A amostra L4 por sua vez ficou no meio-termo em relação as demais emulsões. Assim, os resultados encontrados neste teste estão de acordo com o teste espectrofotométrico, sendo um teste alternativo e confiável para a estabilidade da emulsão. Apesar da rápida separação de fases aqui reportada, é importante salientar que os resultados são relevantes, uma vez que a concentração de FDS utilizada foi de apenas 1%, portanto acredita-se que maiores proporções de FDS possam produzir emulsões muito mais estáveis.

Tabela 4.7 Separação de fases (mL) de emulsões preparadas com óleo de soja e solução a 1% (m/v) das farinhas desengorduradas de sapucaia (1:3, v/v), homogeneizadas a 15.000 rpm por 5 minutos.

Amostra	Tempo (min.)					
	0	10	20	30	60	120
L1	ns*	1,83 ± 0,15 ^c	2,67 ± 0,29 ^c	2,73 ± 0,23 ^d	3,37 ± 0,21 ^c	3,70 ± 0,26 ^c
L2	ns	4,03 ± 0,06 ^a	4,73 ± 0,32 ^a	4,80 ± 0,26 ^{ab}	5,23 ± 0,12 ^a	5,57 ± 0,40 ^a
L3	ns	3,50 ± 0,00 ^b	4,43 ± 0,12 ^a	4,53 ± 0,06 ^b	5,07 ± 0,06 ^a	5,27 ± 0,12 ^a
L4	ns	3,10 ± 0,36 ^b	3,50 ± 0,50 ^b	3,80 ± 0,44 ^b	4,00 ± 0,44 ^b	4,33 ± 0,32 ^b
L5	ns	1,57 ± 0,12 ^c	2,33 ± 0,12 ^c	2,47 ± 0,06 ^d	3,00 ± 0,00 ^c	3,23 ± 0,06 ^c
LC	ns	4,17 ± 0,58 ^a	5,00 ± 0,50 ^a	5,17 ± 0,31 ^a	5,43 ± 0,51 ^a	5,47 ± 0,57 ^a
LS	ns	1,57 ± 0,06 ^c	2,17 ± 0,29 ^c	2,40 ± 0,52 ^d	3,03 ± 0,42 ^c	3,17 ± 0,29 ^c

*ns = não separado; letras minúsculas indicam diferença estatística conforme teste de Duncan ($p < 0,05$). FONTE: O autor (2018).

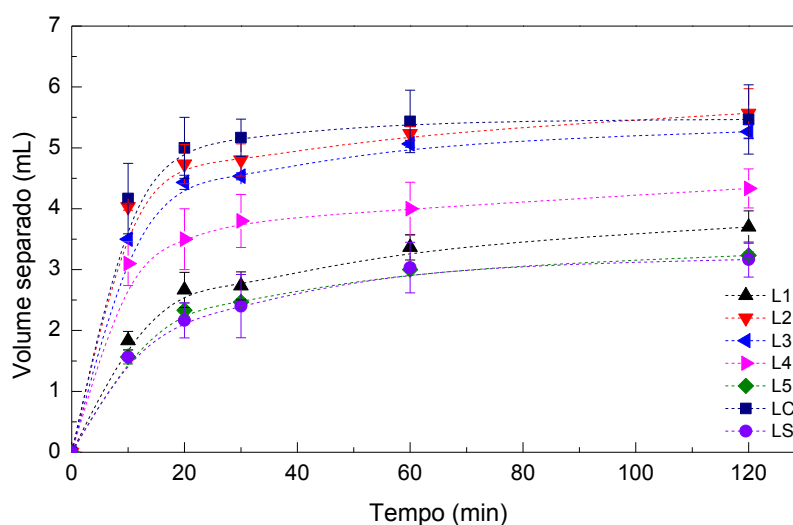


Figura 4.11 Teste de separação de fases de emulsões preparadas com óleo de soja e solução a 1% (m/v) das farinhas de sapucaia desengorduradas (1:3, v/v), homogeneizadas a 15.000 rpm por 5 min. O pontilhado apenas serve como guia. FONTE: O autor (2018).

As micrografias das emulsões óleo-em-água produzidas com a solução 1% (m/v) de FDS e óleo de soja são exibidas na **Figura 4.12a**, enquanto a distribuição de tamanho de gotas (DTG) de cada amostra é apresentada no gráfico da **Figura 4.12b**. É possível verificar que a FDS é capaz de produzir emulsões com gotas de tamanho micrométrico, cujo diâmetro foi influenciado pelas diferentes farinhas utilizadas. Esta informação é reforçada pelo gráfico de frequência da DTG (**Figura 4.12b**), que revela diferença estatística ($p < 0,05$) na DTG de todas as amostras nas faixas de diâmetro avaliadas (0,1 a $> 60,0 \mu\text{m}$).

Aqui destacam-se as emulsões produzidas com as amostras L3, L4, L5 e LS, que obtiveram entre 60 e 85% de sua DTG com gotas menores que $15,0 \mu\text{m}$. Por outro lado, a amostra LC, por ser uma das menos estáveis, apresentou gotas em tamanhos maiores, e quase 40% de sua DTG $> 60,0 \mu\text{m}$. Excluindo-se LC, todas emulsões apresentaram mais de 71% de sua DTG entre 0,1 e $30,0 \mu\text{m}$. Sugere-se o isolamento de proteínas da sapucaia a fim de avaliar suas características funcionais, uma vez que as proteínas isoladas/concentradas, em geral, possuem melhores propriedades funcionais, bem como melhor poder emulsionante por conta de sua capacidade anfifílica.

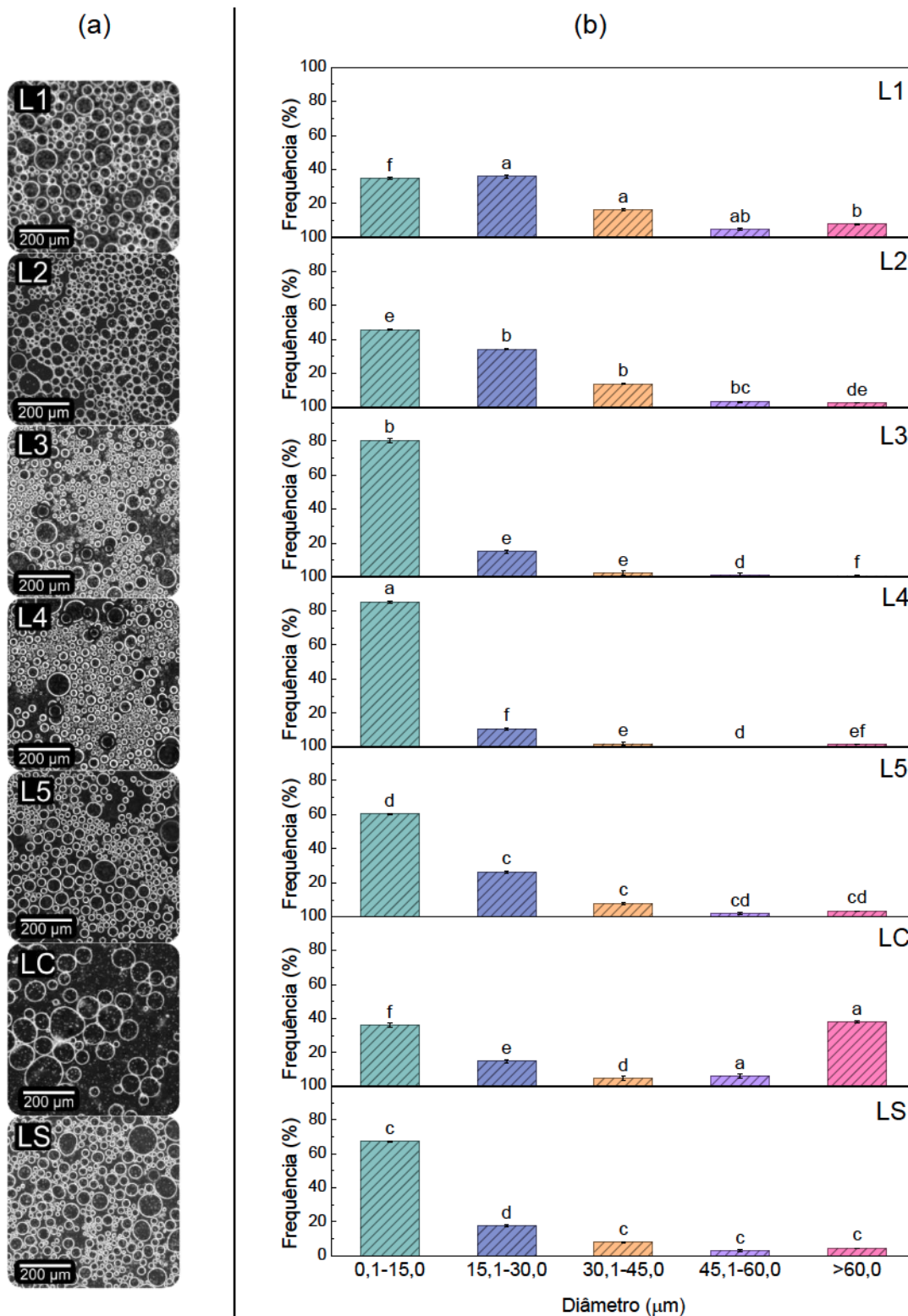


Figura 4.12 (a) Micrografias de emulsões preparadas com óleo de soja e solução a 1% (m/v) das farinhas de sapucaia desengorduradas (1:3, v/v). Ampliação de 80 ×; a barra representa 200 µm. (b) Distribuição de tamanho de gotas (DTG) das emulsões. Letras minúsculas indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras na mesma faixa de diâmetro. FONTE: O autor (2018).

4.4 CONCLUSÕES

As propriedades funcionais da farinha parcialmente desengordurada de sapucaia (FDS) usando propano comprimido, e CO₂ supercrítico foram avaliadas e comparadas com a farinha desengordurada com éter de petróleo. Os resultados indicam que os processos de desengorduramento com propano comprimido nas condições aqui estudadas, de um modo geral, pouco afetam a morfologia dos grânulos, e as características físico-químicas da FDS, causando um mínimo de impacto no perfil nutricional das amostras. Por outro lado, as análises termogravimétricas revelaram que há um impacto nas propriedades de estabilidade à degradação térmica das amostras de farinha de sapucaia. Dentre as FDS, a L1 e LS destacaram-se por apresentar maior atividade emulsionante. As FDS apresentaram outras propriedades funcionais como capacidade de espuma, além de elevada capacidade de absorção de água e óleo.

A FDS foi eficaz na produção de emulsões cuja estrutura apresentou gotas de tamanho micrométrico, com alegada estabilidade. Em termos gerais, a FDS é uma boa fonte de proteínas e carboidratos. Devido ao elevado conteúdo proteico e residual lipídico, associado ao teor de ácidos graxos insaturados e compostos bioativos já relatados para a castanha de sapucaia, a FDS pode ser usada como ingrediente em produtos de panificação e confeitaria a fim de aumentar a qualidade nutricional. A FDS fornece não somente alto conteúdo proteico, mas também melhora as propriedades funcionais. A farinha totalmente desengordurada pode ser melhorada para ambas as propriedades nutricionais e de qualidade de produtos alimentícios. Como pesquisas futuras, sugere-se a avaliação do perfil de aminoácidos das FDS, revelando assim o valor nutritivo das proteínas da sapucaia, além da produção e o estudo de concentrados e isolados proteicos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diversas propriedades da castanha de sapucaia e seus respectivos óleos foram aqui estudadas. As análises mostraram que a composição de ácidos graxos dos óleos varia conforme o método de extração, o que impacta diretamente na qualidade nutricional e funcional de seu óleo. Além disso, revelou-se que os extratos metanólicos dos óleos apresentaram conteúdo de compostos fenólicos totais e propriedades antioxidantes. Os óleos de sapucaia foram termicamente estáveis até 300 °C com perda de massa de ~ 5%. Os parâmetros DSC mostraram que os perfis de fusão e cristalização dos óleos de sapucaia são semelhantes independentemente do método de extração. A tecnologia de fluidos pressurizados utilizando principalmente o propano na condição subcrítica podem ser aplicadas na extração de óleo da sapucaia com eficiência de até 93% quando comparado à extração clássica com solvente orgânico, sem prejuízo às propriedades químicas e térmicas. A composição de triacilgliceróis para óleo de sapucaia revelou OOO, SOO, POO, PLO e POS como triacilgliceróis majoritários.

As propriedades funcionais da farinha parcialmente desengordurada de sapucaia (FDS) foram avaliadas e os resultados indicam que os processos de desengorduramento com propano comprimido, de um modo geral, pouco afetam a morfologia dos grânulos, e as características físico-químicas da FDS, causando um mínimo de impacto no perfil nutricional das amostras, porém há um impacto nas propriedades de estabilidade à degradação térmica. A FDS apresenta relevante capacidade emulsionante, propriedades de espuma, e capacidade de absorção de água e óleo, além de ser eficaz na produção de emulsões com estrutura de gotas com tamanho micrométrico, e alegada estabilidade.

Em termos gerais, a FDS é uma boa fonte de proteínas e carboidratos, podendo ser usada como ingrediente em produtos de panificação e confeitaria a fim de aumentar a qualidade nutricional. Esses resultados reforçam também que os óleos de sapucaia são adequados para consumo humano e para aplicações industriais, nos ramos alimentar, cosmético e farmacêutico.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como pesquisas futuras, sugere-se:

- A avaliação do perfil de aminoácidos das castanhas após os processos de extração do óleo, revelando assim o valor nutritivo das proteínas da sapucaia;
- Produzir o leite a partir da sapucaia e verificar as suas características funcionais e nutricionais;
- Verificar a existência de outros compostos químicos nesses óleos, como os tocoferóis, e avaliar também suas atividades biológicas potenciais;
- Avaliar o efeito da adição da farinha de sapucaia na produção e características de produtos alimentícios como pães e *cookies*.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, S.; RIZAWI, J. A.; SRIVASTAVA, P. K. Effect of soy protein isolate incorporation on quality characteristics and shelf-life of buffalo meat emulsion sausage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 3, p. 290–294, 2010.
- ANDREATA, H. P.; TRAVASSOS, O. P. **Glossário de Botânica**. Rio de Janeiro: Ed. Universitária Santa Úrsula, 1994. 134p
- AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 5th. ed. Champaign, Illinois: AOCS Press, 1997.
- AUGUSTO, P. E. D. *et al.* Modelling the effect of temperature on the lipid solid fat content (SFC). **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 132–135, 2012.
- AZHARI, S. *et al.* Physicochemical properties and chemical composition of Seinat (*Cucumis melo* var . tibish) seed oil and its antioxidant activity. **Grasas Y Aceites**, v. 65, n. 1, p. 1–9, 2014.
- BAIL, S. *et al.* Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1122–1132, 2008.
- BARBA, L.; ARRIGHETTI, G.; CALLIGARIS, S. Crystallization and melting properties of extra virgin olive oil studied by synchrotron XRD and DSC. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, n. 3, p. 322–329, 2013.
- BELCHIOR, V.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Potential of diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy and chemometrics for coffee quality evaluation. **ETP International Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2016.
- BEN OTHMAN, S. *et al.* Water-soluble extracts from defatted sesame seed flour show antioxidant activity in vitro. **Food Chemistry**, v. 175, p. 306–314, 2015.
- BEN SALEM, H.; MAKKAR, H. P. S. Defatted Moringa oleifera seed meal as a feed additive for sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 150, n. 1–2, p. 27–33, mar. 2009.
- BENZIE, I. .; STRAIN, J. . The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–6, 1996.
- BERTO, A. *et al.* Proximate compositions, mineral contents and fatty acid compositions of native Amazonian fruits. **Food Research International**, v. 77, p. 441–449, 2015.
- BHISE, S.; KAUR, A.; AGGARWAL, P. Development of protein enriched noodles using texturized defatted meal from sunflower, flaxseed and soybean. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 9, p. 5882–5889, 2015.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917,

1959.

BLOMHOFF, R. *et al.* Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. **British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 2, p. S52–S60, 2006.

BRAGA, L. F. *et al.* Caracterização morfométrica de sementes de castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess - Lecythidaceae). **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 5, n. 1, p. 111–116, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRANDÃO, M. S. *et al.* Antinociceptive effect of *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) in models of acute pain in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, p. 180–186, 2013.

BREIL, C. *et al.* Bio-based solvents for green extraction of lipids from oleaginous yeast biomass for sustainable aviation biofuel. **Molecules**, v. 21, n. 2, p. 1–14, 2016.

BREWER, D. R.; FRANCO, J. M.; GARCIA-ZAPATEIRO, L. A. Rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with oil and protein isolates from sesame (*Sesamum Indicum*). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 36, n. 1, p. 64–69, mar. 2016.

BRUM, A. A. S.; ARRUDA, L. F. DE; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 849–854, 2009.

CARIOCA, A. C.; FERREIRA, C. M. Application of diffuse reflectance spectroscopy in the quantification of the constituents of bauxite and iron ore. **Mineração Mining**, v. 64, n. 2, p. 199–204, 2011.

CARVALHO, R. F. *et al.* Intake of partially defatted Brazil nut flour reduces serum cholesterol in hypercholesterolemic patients--a randomized controlled trial. **Nutrition journal**, v. 14, n. 1, p. 59, 2015.

CARVALHO, R. H. R. *et al.* Extraction, fatty acid profile and antioxidant activity of sesame extract: (*Sesamum Indicum* L.). **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, n. 2, p. 409–420, 2012a.

CARVALHO, I. M. M. DE *et al.* O Consumo de castanhas pode reduzir o risco de processos inflamatórios e doenças crônicas. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 8, p. 1977–1996, 2012b.

CARVALHO, I. M. M. DE *et al.* Caracterização química da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) da região da zona da mata Mineira. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 971–977, 2012c.

CARVALHO, M. G. DE *et al.* Avaliação dos parâmetros físicos e nutricionais de amêndoas de sapucaia and castanha-do-gurguéia. **Revista Ciências Agronômicas**, v. 39, n. 4, p. 517–523, 2008.

CASTELO-BRANCO, V. N. *et al.* Antioxidant capacity is a surrogate measure of the quality and stability of vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 2, p. 224–235, 2016.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Potential application of antioxidant capacity assays to assess the quality of edible vegetable oils. **Lipid Technology**, v. 21, n. 7, p. 152–155, 2009.

CHAN, K. W. *et al.* Defatted kenaf seed meal (DKSM): Prospective edible flour from agricultural waste with high antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 308–313, 2013.

CHEN, N. *et al.* Development of defatted soy flour based bio-adhesives using Viscozyme L. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 198–203, 2015.

CHEN, X. *et al.* FTIR spectroscopic characterization of soy proteins obtained through AOT reverse micelles. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p. 435–437, 2013.

CHRISTIE, W. W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. **Journal Of Lipid Research**, v. 23, p. 1072–1075, 1982.

CHRISTODOULEAS, D. C. *et al.* Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant profile of untreated oils. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 5, p. 1294–1302, 2015.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Alimentarius Commission Standards. **Codex Stan 12-1981**, p. 1–8, 2001.

COELHO, R. *et al.* Extraction of kiwifruit seed (*Actinidia deliciosa*) oil using compressed propane. **Journal of Food Process Engineering**, v. 39, n. 4, p. 335–344, 2016.

CORREA, M. *et al.* Extraction of inflorescences of *Musa paradisiaca* L. using supercritical CO₂ and compressed propane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 113, p. 128–135, jul. 2016.

CORSO, M. P. *et al.* Extraction of sesame seed (*Sesamun indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 52, n. 1, p. 56–61, 2010.

COSCUETA, E. R. *et al.* Bioactive properties of peptides obtained from Argentinian defatted soy flour protein by *Corolase* PP hydrolysis. **Food Chemistry**, v. 198, p. 36–44, 2016.

COSTA-SINGH, T.; BITENCOURT, T. B.; JORGE, N. Caracterização e compostos bioativos do óleo da castanha-de-cutia (*Couepia edulis*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 61–68, 2012.

COSTA, T.; JORGE, N. Compostos bioativos benéficos presentes em castanhas e nozes. **Ciência Biológica e da Saúde**, v. 13, n. 3, p. 195–203, 2011.

COSTA, T.; JORGE, N. Characterization and fatty acids profile of the oils from Amazon nuts and walnuts. **Nutrition & Food Science**, v. 42, n. 4, p. 279–287, 13

jul. 2012.

COSTA, P. A. DA *et al.* Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 43, n. 6, p. 1603–1606, 2010.

CZAIKOSKI, K. *et al.* Kinetics, composition and biological activity of *Eupatorium intermedium* flower extracts obtained from scCO₂ and compressed propane. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 97, p. 145–153, 2015a.

CZAIKOSKI, K. *et al.* Extraction of *Campomanesia xanthocarpa* fruit using supercritical CO₂ and bioactivity assessments. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 79–85, 2015b.

DA SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, fev. 2016.

DEL RÍO, J. C. *et al.* Chemical composition and thermal behavior of the pulp and kernel oils from macauba palm (*Acrocomia aculeata*) fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 294–304, 2016.

DEMOLINER, F. *et al.* Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**, v. 108, n. October 2017, p. 27–34, 2018.

DENADAI, S. M. S. *et al.* In vitro digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 535–543, 2007.

FERREIRA, É. L. DE F. *et al.* Phytochemical investigation and antioxidant activity of extracts of *Lecythis pisonis* Camb. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 8, p. 353–360, 25 fev. 2014.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497, 1957.

FRANCO, M. N. *et al.* Total phenolic compounds and tocopherols profiles of seven olive oil varieties grown in the south-west of Spain. **Journal of oleo science**, v. 63, n. 2, p. 115–25, 2014.

FREITAS, J. B. *et al.* Edible seeds and nuts grown in Brazil as sources of protein for human nutrition. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, n. 6, p. 857–862, 2012.

FREITAS, L. DOS S. *et al.* Extraction of grape seed oil using compressed carbon dioxide and propane: extraction yields and characterization of free glycerol compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 8, p. 2558–2564, abr. 2008.

FUNASAKI, M. *et al.* Brazil nut oil: quality control via triacylglycerol profiles provided by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 11263–11267, 2012.

GANORKAR, P. M. *et al.* Defatted flaxseed meal incorporated corn-rice flour blend based extruded product by response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 4, p. 1867–1877, 2016.

GAO, F.; BIRCH, J. Oxidative stability, thermal decomposition, and oxidation onset prediction of carrot, flax, hemp, and canola seed oils in relation to oil composition and positional distribution of fatty acids. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 7, p. 1042–1052, 2016.

GAO, F.; YANG, S.; BIRCH, J. Physicochemical characteristics, fatty acid positional distribution and triglyceride composition in oil extracted from carrot seeds using supercritical CO₂. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 45, p. 26–33, fev. 2016.

GARCIA, V. A. D. S. *et al.* Extraction of Mucuna seed oil using supercritical carbon dioxide to increase the concentration of L-Dopa in the defatted meal. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 69, p. 75–81, 2012.

GHAZANI, S. M.; MARANGONI, A. G. Minor components in canola oil and effects of refining on these constituents: A review. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, n. 7, p. 923–932, 2013.

GHAZANI, S. M.; MARANGONI, A. G. **Healthy Fats and Oils**. 2. ed. Elsevier Ltd., 2016.

GIAP, S. G. E. The Hidden property of Arrhenius-type relationship: viscosity as a function of temperature. **Journal of Physical Science**, v. 21, n. 1, p. 29–39, 2010.

GILA, A. *et al.* Correlation of fatty acid composition of virgin olive oil with thermal and physical properties. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 117, n. 3, p. 366–376, 2015.

GUEDES, A. M. M. *et al.* Length-scale specific crystalline structural changes induced by molecular randomization of pequi oil. **Journal of Oleo Science**, v. 66, n. 5, p. 469–478, 2017.

GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Characterization of edible oils and lard by fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, n. 10, p. 1281–1286, 1997.

GUIMARÃES, R. D. C. A. *et al.* Study of the proteins in the defatted flour and protein concentrate of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 32, n. 3, p. 464–470, 2012a.

GUIMARÃES, R. D. C. A. *et al.* Thermal properties of defatted meal, concentrate, and protein isolate of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog.). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 32, n. 1, p. 52–55, mar. 2012b.

HUA, Y. *et al.* Heat induced gelling properties of soy protein isolates prepared from different defatted soybean flours. **Food Research International**, v. 38, n. 4, p. 377–385, 2005.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

HUANG, Y. Y.; MORI, S. A.; KELLY, L. M. Toward a phylogenetic-based generic classification of neotropical lecythidaceae—I. Status of *Bertholletia*, *Corythophora*, *Eschweilera* and *Lecythis*. **Phytotaxa**, v. 203, n. 2, p. 085–121, 2015.

HUGUENIN, G. V. B. *et al.* Improvement of antioxidant status after Brazil nut intake in hypertensive and dyslipidemic subjects. **Nutrition Journal**, v. 14, n. 1, p. 54, 29 dez. 2015.

IBAMA. **Instrução normativa n. 4, de 13 de abril de 2011**. Brasil, 2011. Disponível em:

<<http://www.portosdoparana.pr.gov.br/arquivos/File/IBAMAinstrunormativa04.pdf>>. Acesso em 10 mar. 2018.

ILLÉS, V. *et al.* Supercritical CO₂ and subcritical propane extraction of spice red pepper oil with special regard to carotenoid and tocopherol content. **Journal of Chromatographic Science**, v. 37, n. September, p. 345–352, 1999.

ILLUZ, D. Zoochory: The Dispersal Of Plants By Animals. In: **All Flesh Is Grass: Plant-Animal Interrelationships**. [s.l.: s.n.]. p. 199–214.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Óleos e Gorduras. In: TAKEMOTO, E. *et al.* (Eds.). **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 593–629.

ITTO. **Sapucaia (*Lecythis pisonis*)**. Disponível em: <<http://www.tropicaltimber.info/pt-br/specie/sapucaia-lecythis-pisonis/>>. Acesso em: 28 jan. 2018.

JESUS, A. A. *et al.* Extraction of palm oil using propane, ethanol and its mixtures as compressed solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 81, p. 245–253, 2013.

JORGE, N. *et al.* Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho e soja em frituras. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 947–951, 2005.

KARUPAIAH, T.; SUNDRAM, K. Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. **Nutrition & metabolism**, v. 4, p. 16, 2007.

KASPECHAK, E. *et al.* Determination of heat-set gelation capacity of a quinoa protein isolate (*Chenopodium quinoa*) by dynamic oscillatory rheological analysis. **Food Chemistry**, v. 232, p. 263–271, 2017.

KAUSHIK, P. *et al.* Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate. **Food Chemistry**, v. 197, p. 212–220, 2016.

KHATTAB, R. Y.; ARNTFIELD, S. D. Functional properties of raw and processed canola meal. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 6, p. 1119–1124, 2009.

KNOTHE, G. Structure indices in FA chemistry. How relevant is the iodine value? **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 9, p. 847–854, 2002.

LEÃO, N. V. M. *et al.* Características biométricas e massa de frutos e sementes de *Lecythis pisonis* Cambess. **Enciclopédia Biosfera**, v. 12, n. 24, p. 167–175, 5 dez. 2016.

LI, R. *et al.* Comparison of GC and DSC monitoring the adulteration of camellia oil with selected vegetable oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 126, n. 3, p. 1735–1746, 2016.

LI, Y. *et al.* A comparative study: the impact of different lipid extraction methods on current microalgal lipid research. **Microbial Cell Factories**, v. 13, n. 1, p. 14, 2014.

LING, B. *et al.* Nutritional quality, functional properties, bioactivity, and microstructure of defatted pistachio kernel flour. **JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 5, p. 689–699, 2016.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. DE. Ultrasound: A powerful tool for leaching. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41–47, 2003.

LUQUE DE CASTRO, M. .; GARCÍA-AYUSO, L. . Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, n. 1–2, p. 1–10, 1998.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.

MALACRIDA, C. R.; KIMURA, M.; JORGE, N. Phytochemicals and antioxidant activity of citrus seed oils. **Food Science and Technology Research**, v. 18, n. 3, p. 399–404, 2012.

MARTÍNEZ, K. D. *et al.* Effect of dynamic high-pressure treatment on the interfacial and foaming properties of soy protein isolate-hydroxypropylmethylcelluloses systems. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1640–1645, 2011.

MARTINS, M. V. *et al.* Neuroprotective effect of Sapucaia nuts (*Lecythis pisonis*) on rats fed with high-fat diet. **Nutr. Hosp.**, v. 33, n. 6, p. 1424–1429, 2016.

MENARD, K. F.; SICHINA, W. J. Prediction of solid fat index (SFI) values of food fats using DSC. **Perkin Elmer thermal analysis application note**, p. 1–3, 2000.

METTLER TOLEDO. **Good Titration Practice in Karl Fischer Titration**. Disponível em: <<http://fr.mt.com/dam/LabDiv/Campaigns/TestingLabs2013/moisture/package/gtp-karl-fischer-EN.pdf>>. Acesso em: 22, maio, 2016.

MIRALIAKBARI, H.; SHAHIDI, F. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. **Food Chemistry**, v. 111, n. 2, p. 421–427, 2008.

MIŠURCOVÁ, L.; AMBROŽOVÁ, J.; SAMEK, D. Seaweed lipids as nutraceuticals. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 64, p. 339–355, 2011.

MOORE, J. C. *et al.* Total protein methods and their potential utility to reduce the risk of food protein adulteration. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 4, p. 330–357, 2010.

MORI, S. A. *et al.* Evolution of Lecythidaceae with an emphasis on the circumscription of neotropical genera: information from combined *ndhF* and *trnL-F* sequence data. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 3, p. 289–301, 1 mar. 2007.

MORI, S. A. *et al.* Observations on the phytogeography of the Lecythidaceae clade (Brazil nut family). **Phytoneuron**, v. 30, n. April, p. 1–85, 2016.

MORI, S. A.; PRANCE, G. T. The “sapucaia” group of *Lecythis* (Lecythidaceae). **Brittonia**, v. 33, n. 1, p. 70, 1981.

NAOZUKA, J. *et al.* Elemental analysis of nuts and seeds by axially viewed ICP OES. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1667–1672, 2011.

NAUMANN, D. Infrared Spectroscopy in Microbiology. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, p. 102–131, 2000.

NAVARRO, S. L. B.; RODRIGUES, C. E. C. Macadamia oil extraction methods and uses for the defatted meal byproduct. **Trends in Food Science and Technology**, v. 54, p. 148–154, 2016.

NDIAYE, P. M. *et al.* Phase behavior of olive and soybean oils in compressed propane and N-butane. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 3, p. 405–415, 2006.

NIMET, G. *et al.* Extraction of sunflower (*Heliantus annuus* L.) oil with supercritical CO₂ and subcritical propane: Experimental and modeling. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, n. 1, p. 262–268, 2011.

OGUNWOLU, S. O. *et al.* Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 852–858, 2009.

OH, Y. A.; ROH, S. H.; MIN, S. C. Cold plasma treatments for improvement of the applicability of defatted soybean meal-based edible film in food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 58, p. 150–159, 2016.

OLIVEIRA, J. P. C. *et al.* Chemical constituents of *Lecythis pisonis* and cytotoxic activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 5, p. 1140–1144, 2012a.

OLIVEIRA, V. B. *et al.* Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 170–179, 2012b.

OLOYEDE, O. O. *et al.* Effects of fermentation time on the functional and pasting properties of defatted *Moringa oleifera* seed flour. **Food science & nutrition**, v. 4, n. 1, p. 89–95, 2016.

ÖNDER, Y.; ACAR, Ü. Defatted peanut meal (*Arachis hypogea*) as a complementary protein source in diets for Mozambique tilapia (*Oreochromis*

- mossambicus*) fry and effect on fatty acid composition. v. 48, n. 2, p. 377–382, 2016.
- ORSAVOVA, J. *et al.* Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 6, p. 12871–12890, 5 jun. 2015.
- PARDO-GIMÉNEZ, A. *et al.* Effect of supplementing crop substrate with defatted pistachio meal on *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. December 2015, p. 3838–3845, 2016.
- PARK, Y. C.; PARK, D. H. Making soy sauce using direct fermentation of defatted soybean meal without the meju (soybean Koji) preparation process. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 777–784, 2016.
- PARRY, J. *et al.* Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 566–573, 2005.
- PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying Properties of Proteins—Evaluation of A Turbidimetric Technique. **J. Agric. Food Chem.**, v. 26, n. 3, p. 716, 1978.
- PEDERSSETTI, M. M. *et al.* Extraction of canola seed (*Brassica napus*) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v. 102, n. 2, p. 189–196, jan. 2011.
- PENA MUNIZ, M. A. *et al.* Physicochemical characterization, fatty acid composition, and thermal analysis of *Bertholletia excelsa* HBK oil. **Pharmacognosy Magazine**, v. 11, n. 41, p. 147–151, 2015.
- PEREIRA, M. G. *et al.* Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 338–348, out. 2017.
- PESSOA, A. S. *et al.* Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 101, p. 95–103, 2015.
- PHAM, L. J.; PHAM, P. J. Biocatalyzed Production of Structured Olive Oil Triacylglycerols. In: BOSKOU, D. (Ed.). **Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions**. InTech, 2012. p. 447–456.
- PINELI, L. DE L. DE O. *et al.* Use of baru (Brazilian almond) waste from physical extraction of oil to produce flour and cookies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 50–55, 2015.
- POONTAWEE, W.; NATAKANKITKUL, S.; WONGMEKIAT, O. Enhancing phenolic contents and antioxidant potentials of *Antidesma thwaitesianum* by supercritical carbon dioxide extraction. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2015, p. 7, 2015.
- QI, J. *et al.* Structural and physico-chemical properties of insoluble rice bran fiber: effect of acid–base induced modifications. **RSC Adv.**, v. 5, n. 97, p. 79915–79923,

2015.

QUEIROGA NETO, V. *et al.* *Dipteryx lacunifera* seed oil: characterization and thermal stability. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 6, p. 1601–1607, 2009a.

QUEIROGA NETO, V. *et al.* Brazil nut (*Bertholletia excelsa* HBK) seed kernel oil: characterization and thermal stability. **Revista Brasileira de Biologia e Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 33–42, 2009b.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

RODRIGUES, A. B. *et al.* First microsatellite markers for *Lecythis pisonis* (Lecythidaceae), an important resource for Brazilian fauna. **Conservation Genetics Resources**, v. 7, n. 2, p. 437–439, 29 jun. 2015.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B. Simultaneous quantitative analysis of two functional food oils, extra virgin olive oil and virgin coconut oil using FTIR spectroscopy and multivariate calibration. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 4, p. 1231–1235, 2011.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B.; YUSOF, F. M. The use of FTIR spectroscopy and chemometrics for rapid authentication of extra virgin olive oil. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 2, p. 207–213, 2014.

ROHMAN, A.; MAN, Y. B. C. Palm oil analysis in adulterated sesame oil using chromatography and FTIR spectroscopy. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 4, p. 522–527, 2011.

SAIRAM, S.; GOPALA KRISHNA, A. G.; UROOJ, A. Physico-chemical characteristics of defatted rice bran and its utilization in a bakery product. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 478–483, 2011.

SAMARAM, S. *et al.* Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: Crystallization and thermal behavior, saturation degree, color and oxidative stability. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 702–708, 2014.

SAMYN, P. *et al.* Quality of Brazilian vegetable oils evaluated by (modulated) differential scanning calorimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 110, n. 3, p. 1353–1365, 2012.

SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, C. A. *et al.* Physico-chemical and rheological characterization of olive-pomace oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 117, n. 1, p. 87–91, jan. 2015.

SÁNCHEZ-RANGEL, J. C. *et al.* The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. **Analytical Methods**, v. 5, n. 21, p. 5990–5999, 2013.

SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Optimization of bioactive compounds extraction from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins assisted by high pressure CO₂. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 12, n. 3, p. 398–

406, 2011.

SANTOS, K. A. *et al.* Extraction of crambe seed oil using subcritical propane: Kinetics, characterization and modeling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 54–61, 2015.

SANTOS, O. V. *et al.* Chemical evaluation and thermal behavior of Brazil nut oil obtained by different extraction processes. **Food Research International**, v. 47, n. 2, p. 253–258, 2012.

SCUSSEL, V. M. *et al.* Stereoscopy and scanning electron microscopy of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) shell, brown skin, and edible part: part one-healthy nut. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 7, 2014.

SHI, C. *et al.* Physicochemical properties analysis and secretome of *Aspergillus Niger* in fermented rapeseed meal. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, 2016.

SHILPI, A.; SHIVHARE, U. S.; BASU, S. Supercritical CO₂ extraction of compounds with antioxidant activity from fruits and vegetables waste - a review. **Focusing on Modern Food Industry**, v. 2, n. 1, p. 44–62, 2013.

SIGER, A.; NOGALA-KALUCKA, M.; LAMPART-SZCZAPA, E. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. **Journal of Food Lipids**, v. 15, n. 2, p. 137–149, 2008.

SILVA, C.; GARCIA, V. A. S.; ZANETTE, C. M. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction using different organic solvents: Oil yield, fatty acids profile and technological analysis of defatted meal. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 3, p. 998–1004, 2016.

SILVA, L. L. *et al.* Effects of *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) in a mouse model of pruritus. **Journal of ethnopharmacology**, v. 139, n. 1, p. 90–7, 2012.

SILVA, M. O. *et al.* Extraction and phase behaviour of *Moringa oleifera* seed oil using compressed propane. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 94, n. 11, p. 2195–2201, 2016a.

SILVA, C. M. DA *et al.* Compressed n-propane extraction of lipids and bioactive compounds from *Perilla* (*Perilla frutescens*). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 102, p. 1–8, 2015.

SILVA, C. M. DA *et al.* Extraction of oil and bioactive compounds from *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze using subcritical n-propane and organic solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 14–21, 2016b.

SOUZA, A. S. DE *et al.* Conhecendo Espécies de Plantas da Amazônia: Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess. – Lecythidaceae). **Comunicado Técnico 250 Embrapa**. Belém, PA:.

SOUZA, V. A. B. DE *et al.* Características físicas de frutos e amêndoas e características químico-nutricionais de amêndoas de acessos de sapucaia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 4, p. 946–952, 2008.

SOVOVÁ, H. Apparent solubility of natural products extracted with near-critical carbon dioxide. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 3, n. December, p. 958–965, 2012.

SPARKS, D. *et al.* Extraction of rice bran oil using supercritical carbon dioxide and propane. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 10, p. 885–891, 2006.

SUPRAYUDI, M. A. *et al.* Evaluation of hydrolysed rubber seed meal as a dietary protein source for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture Research**, p. 3801–3808, 2016.

TAN, C. P.; CHE MAN, Y. B. Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: Comparison of thermal properties and chemical composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 2, p. 143–155, fev. 2000.

TEIXEIRA, G. L. *et al.* The Impact of polyoxyethylene sorbitan surfactants in the microstructure and rheological behaviour of emulsions made with melted fat from cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 19, n. 4, p. 725–738, 3 jul. 2016.

TEIXEIRA, G. L. *et al.* Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils: A potential source of vegetable oil in industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1–17, 2017.

TEIXEIRA, G. L. *et al.* Assessment of subcritical propane, supercritical CO₂ and Soxhlet extraction of oil from sapucaia (*Lecythis pisonis*) nuts. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, n. October 2017, p. 122–132, 2018.

TENGGU-ROZAINA, T. M.; BIRCH, E. J. Thermal oxidative stability analysis of hoki and tuna oils by Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetry. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 7, p. 1053–1061, 2016.

TONIAL, I. B. *et al.* Avaliação de diferentes métodos de extração lipídica sobre a composição de ácidos graxos poliinsaturados em leite de vaca. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 59, n. 1, p. 78–81, 2009.

TRENTINI, C. P. *et al.* Low-pressure solvent extraction of oil from macauba (*Acrocomia aculeata*) pulp: characterization of oil and defatted meal. **Ciênc. rural**, v. 46, n. 4, p. 725–731, 2016.

TRENTINI, C. P. *et al.* Oil extraction from macauba pulp using compressed propane. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 126, p. 72–78, ago. 2017.

TURAN, D.; ALTAY, F.; ÇAPANOĞLU GÜVEN, E. The influence of thermal processing on emulsion properties of defatted hazelnut flour. **Food Chemistry**, v. 167, p. 100–106, 2015.

TURAN, D.; CAPANOGLU, E.; ALTAY, F. Investigating the effect of roasting on functional properties of defatted hazelnut flour by response surface methodology (RSM). **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 758–765, 2015.

VALLILO, M. I. *et al.* Caracterização química parcial das sementes de *Lecythis pisonis*. **Acta Amazonica**, v. 28, n. 2, p. 131–140, 1998.

VALLILO, M. I. *et al.* *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 197–200, ago. 1999.

VAN HOED, V. Phenolic compounds in seed oils. **Lipid Technology**, v. 22, n. 11, p. 247–249, 2010.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S. K. Chemical composition of selected edible nut seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4705–4714, jun. 2006.

VIEIRA, M. E. B. *et al.* Isolation, characterization and mechanism of action of an antimicrobial peptide from *Lecythis pisonis* seeds with inhibitory activity against *Candida albicans*. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 47, n. 9, p. 716–729, 2015.

WAN NIK, W. B. *et al.* Rheology of bio-edible oils according to several rheological models and its potential as hydraulic fluid. **Industrial Crops and Products**, v. 22, n. 3, p. 249–255, 2005.

WHO/FAO/UNU EXPERT CONSULTATION. Protein and amino acid requirements in human nutrition. **World Health Organization technical report series**, n. 935, p. 1–265, 2007.

WICKENS, G. E. Edible nuts. In: **Non-Wood Forest Products**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1995. p. 198.

XU, L. *et al.* Qualitative analysis of edible oil oxidation by FTIR spectroscopy using a mesh “cell”. **Anal. Methods**, v. 7, n. 10, p. 4328–4333, 2015.

XU, Y. *et al.* A comparative study on microstructure, texture, rheology, and crystallization kinetics of palm-based diacylglycerol oils and corresponding palm-based oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 8, p. 1179–1192, ago. 2016.

YANG, H.; IRUDAYARAJ, J.; PARADKAR, M. M. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 25–32, 2005.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1573–1580, dez. 2009.

ZANI, L. B. *et al.* A utilização e o potencial das sementes florestais. **Natureza on line**, v. 11, n. 3, p. 118–124, 2013.

ZANQUI, A. B. *et al.* Subcritical extraction of flaxseed oil with n-propane: Composition and purity. **Food Chemistry**, v. 188, p. 452–458, 2015.

ZANQUI, A. B. *et al.* Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil composition varies with changes in temperature and pressure in subcritical extraction with n-propane. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 64–70, 2016.

ZHANG, H. *et al.* Analysis of carbonyl value of frying oil by Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of Oleo Science**, v. 64, n. 4, p. 375–380, 2015.

ZHANG, J. *et al.* Thermal transition and decomposition properties of pH- and phosphate-induced defatted soybean meals. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 128, n. 2, p. 699–706, 2017.

ZHANG, Q. *et al.* Functional properties and structure changes of soybean protein isolate after subcritical water treatment. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. June, p. 3412–3421, 2014.

ZHANG, X. *et al.* Comparative analysis of thermal behavior, isothermal crystallization kinetics and polymorphism of palm oil fractions. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 1036–1052, 2013.

ZHENG, P. *et al.* Development of defatted soy flour-based adhesives by acid hydrolysis of carbohydrates. **Polymers**, v. 9, n. 5, 2017.

ZHONG, T. *et al.* Physical, antioxidant and antimicrobial properties of modified peanut protein isolate based films incorporating thymol. **RSC Advances**, v. 7, n. 66, p. 41610–41618, 2017.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; BETA, T. Multi-response optimization of phenolic antioxidants from white tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) and their identification by LC-DAD-Q-TOF-MS/MS. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 897–907, 2016.



Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils

A potential source of vegetable oil in industry

Gerson Lopes Teixeira¹ · Suelen Ávila¹ · Joana Léa Meira Silveira² · Marcelo Ribani³ · Rosemary Hoffmann Ribani¹

Received: 31 March 2017 / Accepted: 24 September 2017
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2017

Abstract Sapucaia (*Lecythis pisonis*) is a tree that grows in Colombia, Venezuela and the Guyanas and is widely distributed in Brazil. This work presents a study of sapucaia nut oils (SO) that were obtained by Bligh and Dyer (LP1) and Soxhlet (LP2) methods and were evaluated for their fatty acid composition, rheological and thermal properties, total phenolic compounds (TPC), antioxidant properties and oxidative stability using Rancimat and ATR-FTIR spectroscopy. The analyses showed that the method of extraction impacts the fatty acid profiles of SO. Oil extracts present considerable TPC content and antioxidant properties. Thermal analysis revealed three degradation steps for SO in the air atmosphere, starting at around 130 °C, being thermally stable up to 300 °C (with a ~ 5% mass loss) and reaching total degradation near 620 °C. Thermal analysis under N₂ produced two degradation steps, initiating at around 130 °C and finishing at 500 °C. Rancimat also confirmed the high thermal stability of SO, with induction periods of 13.28 h (LP1) and 7.18 h (LP2). The DSC parameters of SO were similar among each other. Crystallization (− 8.04 to − 73.93 °C) and melting (− 31.34 to 8.28 °C) phases occurred over a large temperature range. SO presented FTIR spectral features with

characteristic bands for vegetable oils. Ostwald–de Waele and Herschel–Bulkley rheological models indicated major pseudoplastic behavior for SO, with a predominant viscous component. These results reinforce that SO are appropriate for human consumption and open up new possibilities for their industrial exploitation, such as for food and the cosmetic, pharmaceutical and biodiesel industries.

Keywords *Lecythis pisonis* · Oil · Fatty acids · Stability · Thermal analysis · Rheology

Abbreviations

SO	Sapucaia nut oil (s)
LP1	Oil extracted by Bligh and Dyer
LP2	Oil extracted by Soxhlet
TPC	Total phenolic compounds
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid
TPTZ	2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine
DPPH	1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
FRAP	Ferric reducing antioxidant power
TE	Trolox equivalent
GA	Gallic acid
GAE	Gallic acid equivalents
OSI	Oxidative stability index
IP	Induction period
ATR-FTIR	Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy
FA	Fatty acid
SFA	Saturated fatty acid
UFA	Unsaturated fatty acid
MUFA	Monounsaturated fatty acid
PUFA	Polyunsaturated fatty acid

✉ Gerson Lopes Teixeira
gerson775@gmail.com

¹ Graduation Program of Food Engineering, Polytechnic Center, Federal University of Paraná, Jardim das Américas, P.O. Box 19011, 81531-990 Curitiba, Paraná, Brazil

² Department of Biochemistry and Molecular Biology, Polytechnic Center, Federal University of Paraná, Jardim das Américas, 81531-980 Curitiba, Brazil

³ Paraná Institute of Technology, João Américo St, 500 Curitiba, Brazil



Assessment of subcritical propane, supercritical CO₂ and Soxhlet extraction of oil from sapucaia (*Lecythis pisonis*) nuts

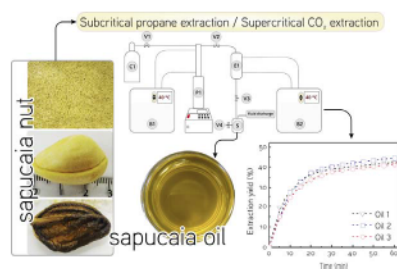


Gerson Lopes Teixeira^a, Saeed M. Ghazani^b, Marcos Lúcio Corazza^a, Alejandro G. Marangoni^b, Rosemary Hoffmann Ribani^{a,*}

^a Graduation Program of Food Engineering, Federal University of Paraná, Polytechnic Center, Jardim das Americas, Curitiba, Paraná, 81531-980, Brazil

^b University of Guelph, Guelph, ON, N1G 2W1, Canada

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Keywords:

Sapucaia
Subcritical propane
Thermal behavior
Triacylglycerols
Oxidative stability

ABSTRACT

The extraction of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oil (SNO) using subcritical propane (SPE) and supercritical CO₂ (with ethanol as co-solvent; scCO₂) as solvent was investigated and compared with the conventional (Soxhlet) extraction. Extraction with scCO₂ was performed at 333 K and 20 MPa while the SPE extractions were carried out in different conditions to investigate the effects of temperature (293–333 K) and pressure (2–10 MPa) on the oil yield and the chemical compositions of the products. Results show that SPE allowed a fast extraction with a higher yield (46.22%) obtained at 333 K and 10 MPa, representing 93% efficiency compared to Soxhlet. Only temperature had significant ($p < 0.05$) effect on the extraction yield. SPE yielded the oils with highest values of polyunsaturated fatty acids (~36%). Stability to oxidation ranges from 6.53 to 11.17 h. The major triacylglycerols present in SNO are OOO, SOO, POO, PLO, and POS.

1. Introduction

An effective way to valorize tree species and prevent their extinction consists mainly of some reforestation techniques or the reduction of deforestation. Another solution is to find proper use for their principal products (fruits, leaves, seeds), aimed at the maintenance of a cycle that assures protection and survival for the species. Some Amazonian trees that were not adequately studied and products of which are not available in the market have no application in industry, being neglected

because of the lack of the required research to stimulate their usage. In this context, *Lecythis pisonis*, a tree which is present in most regions of Brazil [1], is underutilized in terms of the use of its main product, the so-called “sapucaia” nuts. This edible nut presents a high lipid content (51–64%), predominantly linoleic acid [1,2] in a yellowish oil, presenting a characteristic flavor and is also well known for its similarity to Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). Although some studies have been conducted with this raw material, its application and usability are still poorly appreciated, because of a lack of information regarding some

* Corresponding author.

E-mail address: ribani@ufpr.br (R.H. Ribani).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2017.10.003>

Received 5 September 2017; Received in revised form 28 September 2017; Accepted 2 October 2017

Available online 05 October 2017

0896-8446/ © 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.